

经典名方小续命汤基准样品关键质量属性量值传递研究

刘臻茵^{1,2}, 王雪颖^{1,2}, 王雪仪^{1,2}, 王俊帅^{1,2}, 刘永利^{2*}

(1. 河南大学药学院, 河南 开封 475004; 2. 河北省药品医疗器械检验研究院, 河北 石家庄 050200)

【摘要】目的 建立经典名方小续命汤基准样品的特征图谱及多指标成分含量测定方法。**方法** 采用 HPLC 对 15 批基准样品进行特征峰归属和含量测定, 并对其进行量值传递分析。**结果** 15 批基准样品的特征图谱共有 18 个特征峰, 指出盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱等 13 个特征峰, 相似度在 0.998~0.999。基准样品中盐酸麻黄碱含量在 1.29~2.02 mg·g⁻¹, 盐酸伪麻黄碱含量在 0.50~1.82 mg·g⁻¹, 芍药苷含量在 7.34~10.93 mg·g⁻¹, 黄芩苷含量在 19.33~26.81 mg·g⁻¹, 汉黄芩苷含量在 3.76~6.00 mg·g⁻¹, 甘草酸铵含量在 1.19~3.27 mg·g⁻¹, 升麻素苷含量在 1.38~2.12 mg·g⁻¹, 防己碱含量在 0.17~0.48 mg·g⁻¹, 黄芩素含量在 0.35~0.64 mg·g⁻¹。**结论** 该研究建立的特征图谱及多成分含量测定方法简单可行, 重复性和稳定性良好, 为经典名方小续命汤基准样品及制剂的质量评价奠定基础。

【关键词】 小续命汤; 经典名方; 基准样品; 特征图谱

DOI:10.70976/j.1008-0805.SZGYGY-2025-0711

CSTR:32392.14.j.1008-0805.SZGYGY-2025-0711

【中图分类号】R284.1 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1008-0805(2025)07-1267-07

小续命汤最早记载于东晋陈延之的《小品方》, 唐宋以前因治疗中风效果显著, 被奉为“诸汤之最要”^[1]。由国家发布的《古代经典名方关键信息表》^[2]可知该方出自孙思邈的《备急千金要方》^[3], 主要由麻黄、防己、人参、黄芩、肉桂、甘草、芍药、川芎、杏仁、附子、防风、生姜共 12 味药材组成, 具有祛风散寒、益气温阳之功。主治阳气不足, 中风卒起, 筋脉拘急, 半身不遂。现代文献研究结果表明小续命汤在治疗中风及其后遗症, 阿尔兹海默症, 类风湿性关节炎等疾病上有显著疗效^[4,5]。

经典名方是指疗效确切、在今天仍有广泛的应用并具有明显特色与优势的古代中医典籍所载的方剂。这些方剂沿用至今, 其临床应用价值受到历代中医学者的广泛尊崇和肯定^[6,7]。但名方多为汤剂, 无法实现现代工业大生产。现代中药药理、毒理较为复杂, 提取工艺考察方式众多。张磊^[8]建议可参考日本汉方药对内服制剂提出的标准汤剂概念, 建立标准汤剂的物质基准和生物学基准来确保临床使用安全、有效和稳定。《古代经典名方中药复方制剂及其基准样品的申报资料要求(征求意见稿)》^[9]指出: 实现复方制剂质量控制应开展药材、饮片、标准煎液及基准样品的质量研究, 确定关键质量属性。

本研究采用随机数表法将小续命汤 12 味饮片随机组合成 15 批小续命汤组方, 并相应地制备 15 批基准样品冻干粉, 采用高效液相色谱法(HPLC)建立小续命汤特征图谱和指标性成分含量测定方法, 分析饮片与基准样品间的指标成分量值传递规律, 初步制定小续命汤基准样品的质量标准, 实现对小续命汤基准样品的质量控制, 为小续命汤及其相关制剂的研发及生产提供参考。

1 材料

1.1 仪器与试剂

Waters e 2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters X Bridge C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Mettler XPE26 型电子天平(梅特勒公司, 0.001 mg); Mettler XS105DU 型电子天平(梅特勒公司, 0.01 mg); KQ5200DA 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); FW100 高速粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); Milli-Q 型超纯水净化系统(Millipore 公司); 药典筛(中国航空工业第四五零厂)。

对照品: 芍药苷(110736 - 202145 质量分数 100%)、升麻素苷(111522 - 201913 质量分数 94.6%)、甘草酸铵(110731 - 201619 质量分数

收稿日期: 2024-07-22; 修订日期: 2024-11-11

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(H2022329003)

作者简介: 刘臻茵(2001-), 女(汉族), 安徽阜阳人, 河南大学药学院在读硕士研究生, 主要从事中药新药开发研究工作。

*通讯作者简介: 刘永利(1973-), 男(汉族), 河北石家庄人, 河南省药品医疗器械检验研究院主任药师, 硕士研究生导师, 硕士学位, 主要从事中药质量评价与标准研究工作。

93.0%)、粉防己碱(110711 - 201810 质量分数 99.6%)、黄芩素(111595 - 201607 质量分数 98.5%)、黄芩苷(110715 - 202122 质量分数 94.2%)、汉黄芩苷(112002 - 201702 质量分数 98.5%)、盐酸麻黄碱(171241 - 201809 质量分数 100%)、盐酸伪麻黄碱(171237 - 201510 质量分数 99.8%)、阿魏酸(110773 - 201915 质量分数 99.4%)、防己诺林碱(110793 - 202108 质量分数 100%)、5 - 0 - 甲基维斯阿米醇苷(111523 - 201811 质量分数 97.4%)、6 - 姜辣素(111833 - 202007 质量分数 99.3%)。

甲醇、乙腈(色谱纯,Merck 公司);磷酸;实验室自制超纯水;其他试剂均为分析纯。

1.2 药材

小续命汤所用药材购自安国市新华中药材有限责任公司,经河北省药品医疗器械检验研究院鉴定,黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria aicalensis* Georgi 的干燥根,肉桂为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎,白芍为收敛毛茛科植物芍药

Paeonia lactiflora Pall. 的干燥根,川芎是伞形科植物川芎 *Ligusticum chuansiong* Hort. 的干燥根茎,苦杏仁是蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥成熟种子,防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricate* (Turcz.) Schischk. 的干燥根,生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎,人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎,麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎,防己为防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 的干燥根,附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 子根的加工品,均符合《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020 版规定,按照《古代经典名方关键信息表》^[2] 要求,附子为黑顺片,由北京春风药业按照前期研究确定的各药材炮制方法进行炮制加工成各批次饮片,并按照《中国药典》2020 年版规定的要求检测,均符合规定。根据随机数表法将小续命汤中的 12 味饮片进行随机组合及排序,组成 15 批小续命汤组方基准样品,15 批组方对应饮片批次见表 1。

表 1 15 批小续命汤基准样品的药材饮片批号

批号	麻黄	防己	人参	黄芩	肉桂	白芍
S1	内蒙古-5	湖北恩施-12	吉林通化-9	陕西商洛-2	广西百色-11	安徽涡阳-7
S2	河北张北-28	湖北恩施-11	吉林延边-13	河北安国-13	广西百色-12	安徽涡阳-10
S3	河北赤城-17	湖北恩施-14	吉林通化-10	河北安国-12	广西玉林-10	安徽涡阳-6
S4	河北怀来-23	江西樟树-4	吉林延边-15	陕西商洛-4	海南-5	河南商丘-15
S5	河北怀来-25	江西樟树-2	吉林通化-8	陕西商洛-1	广西玉林-7	安徽亳州-1
S6	河北怀来-21	湖南康桥-10	吉林延边-11	内蒙赤峰-6	广西百色-15	河南商丘-11
S7	河北怀来-22	湖北恩施-15	吉林抚松-4	河北安国-11	广西玉林-6	安徽亳州-3
S8	河北张北-26	湖南康桥-6	吉林抚松-3	内蒙赤峰-7	广西玉林-8	安徽亳州-4
S9	内蒙古-4	湖南康桥-7	吉林通化-6	内蒙赤峰-8	海南-2	安徽涡阳-8
S10	河北张北县-27	湖北恩施-13	吉林抚松-5	内蒙赤峰-9	广西玉林-9	安徽涡阳-9
S11	河北张北县-30	江西樟树-5	吉林延边-12	河北安国-14	广西百色-13	安徽亳州-5
S12	河北张北县-29	湖南康桥-9	吉林抚松-2	陕西商洛-3	海南-3	河南商丘-14
S13	内蒙古-3	江西樟树-1	吉林抚松-1	陕西商洛-5	海南-1	安徽亳州-2
S14	内蒙古-1	湖南康桥-8	吉林通化-7	内蒙赤峰-10	海南-4	河南商丘-12
S15	河北怀来县-24	江西樟树-3	吉林延边-14	河北安国-15	广西百色-14	河南商丘-13
批号	甘草	川芎	苦杏仁	黑顺片	防风	生姜
S1	新疆省库尔勒博湖县-6	四川都江堰-10	河北怀来-8	布拖-7	河北丰宁-14	山东寿光-2
S2	内蒙古喀喇沁旗-13	四川都江堰-7	河北赤城-13	江西-3	内蒙海拉尔-10	山东莱芜-6
S3	内蒙古喀喇沁旗-11	四川都江堰-6	河北赤城-14	布拖-8	河北丰宁-11	山东寿光-5
S4	内蒙古杭锦旗-4	四川彭州-1	河北围场县-3	安县-14	河北丰宁-15	山东寿光-3
S5	新疆省库尔勒博湖县-10	四川眉山县-14	河北怀来-10	江西-5	河北安国-5	山东安丘-12
S6	内蒙古杭锦旗-1	四川彭州-4	河北赤城-12	江西-4	河北丰宁-13	山东莱芜-7
S7	内蒙古杭锦旗-3	四川眉山县-11	河北围场县-5	江西-1	河北安国-3	山东寿光-4
S8	新疆省库尔勒博湖县-7	四川彭州-5	河北围场县-4	布拖-6	河北丰宁-12	山东安丘-15
S9	内蒙古喀喇沁旗-14	四川都江堰-9	河北围场县-1	布拖-9	内蒙海拉尔-9	山东寿光-1
S10	内蒙古杭锦旗-2	四川彭州-3	河北怀来-7	江西-2	河北安国-4	山东安丘-11
S11	新疆省库尔勒博湖县-9	四川眉山县-12	河北赤城-15	安县-15	内蒙海拉尔-6	山东莱芜-8
S12	内蒙古喀喇沁旗-12	四川彭州-2	河北怀来-6	安县-11	河北安国-1	山东安丘-14
S13	内蒙古喀喇沁旗-15	四川眉山县-13	河北围场县-2	安县-13	内蒙海拉尔-7	山东莱芜-10
S14	新疆省库尔勒博湖县-8	四川眉山县-15	河北怀来-9	布拖-10	内蒙海拉尔-8	山东莱芜-9
S15	内蒙古杭锦旗-5	四川都江堰-8	河北赤城-11	安县-12	河北安国-2	山东安丘-13

2 方法与结果

2.1 15 批小续命汤基准样品制备

称取麻黄 13.8 g, 防己 13.8 g, 人参 13.8 g, 黄芩 13.8 g, 肉桂 13.8 g, 白芍 13.8 g, 甘草(炒) 13.8 g, 川芎 13.8 g, 苦杏仁(焯) 13.8 g, 防风 20.7 g, 黑顺片 15 g, 生姜(鲜品) 69 g 分别将其捣碎成能过四目筛的粗粉粒备用, 然后将麻黄置于砂锅并加入 2400 mL 的水浸泡 30 min 后武火(1200 W)煮沸, 以“高火控温”法去沫 3 次, 随后关火将药液冷却至室温后, 加入其余药味并浸泡 30 min, 浸泡完成后武火煮沸后调至文火(600 W)煎煮 90 min, 200 目纱布趁热过滤, 冷却至室温后定容至 600 ml, 充分混匀后冷冻干燥即得基准样品对应实物。

2.2 小续命汤基准样品特征图谱的建立

2.2.1 色谱条件

Waters X Bridge C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A) - 0.2% 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0 ~ 5 min, 4% A; 5 ~ 12 min, 4% ~ 8% A; 12 ~ 17 min, 8% ~ 9% A; 17 ~ 18 min, 9% ~ 11% A; 18 ~ 52 min, 11% ~ 15% A; 52 ~ 55 min, 15% ~ 20% A; 55 ~ 90 min, 20% ~ 27% A; 90 ~ 105 min, 27% ~ 50% A; 105 ~ 110 min, 50% ~ 75% A; 110 ~ 120 min, 75% ~ 75% A; 120 ~ 121 min, 75% ~ 4% A); 检测波长为 210 nm 与 245 nm; 柱温为 30 °C; 流速为 1.0 mL · min⁻¹; 进样量为 10 μL。

2.2.2 供试品溶液的制备

精密称取小续命汤基准样品冻干粉 0.3 g, 精密加

入 75% 甲醇 20 mL 溶液, 称重、密塞、超声处理 30 min, 补重。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得。

2.2.3 对照品溶液的制备

精密称取芍药苷对照品、升麻素苷对照品、阿魏酸、5-O 甲基维斯阿米醇苷、汉黄芩苷对照品、黄芩苷对照品、黄芩素对照品、甘草酸铵、粉防己碱、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、防己诺林碱、6-姜辣素对照品适量, 加甲醇制成混合对照品溶液, 作为对照品参照物溶液。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 精密度

取同一供试品溶液, 按照“2.2.1”项的色谱条件进行 HPLC 分析, 连续进样 6 次, 记录色谱图。在 245 nm 和 210 nm 下以 12 号峰(黄芩苷)为参照峰, 计算各峰的相对保留时间并计算 RSD。结果见表 2。

2.2.4.2 稳定性

取同一供试品溶液, 按照“2.2.1”项的色谱条件进行 HPLC 分析, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 记录色谱图。在 245 nm 和 210 nm 下以 12 号峰(黄芩苷)为参照峰, 计算各峰的相对保留时间并计算 RSD。结果见表 2。

2.2.4.3 重复性

分别精密称取同一批次基准样品粉末 0.15, 0.3, 0.45 g 各 3 份, 按“2.2.2”项的方法制备供试品溶液, 并按照“2.2.1”项的色谱条件依次进行 HPLC 分析, 记录色谱图。在 245 nm 和 210 nm 下以 12 号峰(黄芩苷)为参照峰, 计算各峰的相对保留时间计算 RSD。结果见表 2。

表 2 小续命汤特征图谱方法学考察

%

峰号	相对保留时间 RSD			相对峰面积 RSD		
	精密度	稳定性	重复性	精密度	稳定性	重复性
1	0.35	0.30	0.21	0.02	0.83	1.97
2	0.34	0.30	0.20	0.12	0.47	1.06
3	0.19	0.10	0.09	1.03	1.21	1.47
4	0.24	0.13	0.11	0.10	0.25	0.90
5	0.20	0.09	0.10	0.30	1.21	1.63
9	0.03	0.01	0.06	0.13	0.27	1.23
10	0.02	0.01	0.07	0.08	0.30	1.85
11	0.01	0.02	0.07	0.05	1.46	1.95
14	0.01	0.02	0.02	0.04	0.11	1.34
15	0.01	0.02	0.03	0.19	0.47	1.94
16	0.08	0.04	0.10	0.07	0.08	0.42
18	0.07	0.04	0.09	0.13	0.38	0.21

2.2.5 15 批小续命汤基准样品的特征图谱相似度评价

按照“2.2.1”项的特征图谱色谱条件, 分别称取 15 批小续命汤基准样品 0.3g, 按照“2.2.2”项的方法制备供试品溶液, 并进行 HPLC 测定, 得到 15 批小续

命汤高效液相特征图谱。将 15 批小续命汤基准样品特征图谱依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2008 版)软件, 以 S1 为参照图谱, 采用中位数法, 时间窗宽度为 0.1, 进行多点校正和色谱峰匹配, 生成对照图谱并计算相似度, 15 批小续命汤基准样品的相

似度均大于 0.998 见表 3。确定了 18 个特征峰,见图 1;15 批小续命汤基准样品特征图谱叠加图见图 2。

表 3 15 批小续命汤基准样品特征图谱相似度

批号	相似度	批号	相似度	批号	相似度
S1	0.999	S6	0.999	S11	0.999
S2	0.999	S7	0.999	S12	0.998
S3	0.999	S8	0.999	S13	0.998
S4	0.999	S9	0.998	S14	0.998
S5	0.999	S10	0.998	S15	0.999

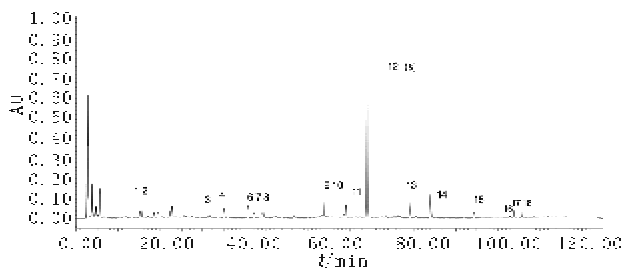


图 1 小续命汤基准样品特征图谱

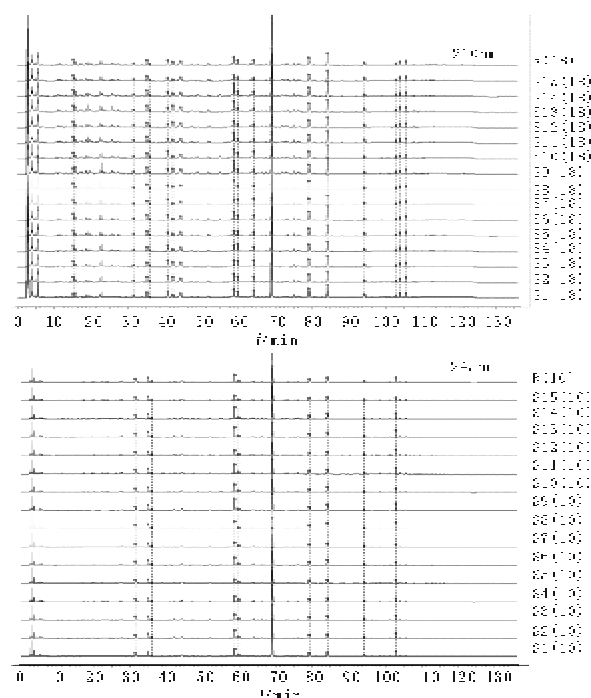
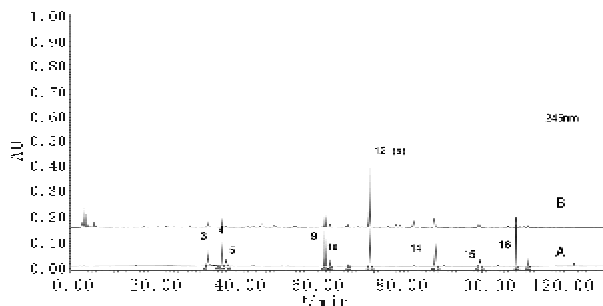
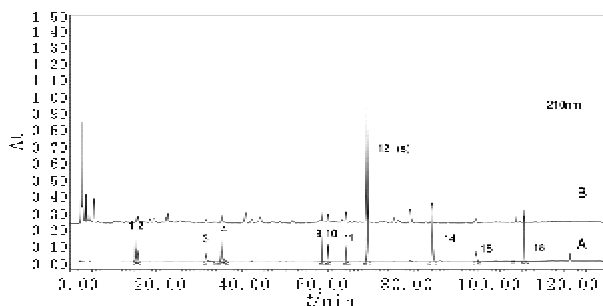


图 2 15 批小续命汤基准样品特征图谱叠加图

2.2.6 小续命汤基准样品的特征图谱共有峰的指认及归属

将供试品溶液与混合对照品溶液进行对照,见图 3。指认出其中 13 个色谱峰,其中 1~2 号峰来自麻黄;3 号峰来自白芍;4、9 号峰来自防风;5 号峰来自川芎;10~11 号峰来自防己;12~15 号峰来自黄芩;16 号峰来自甘草;18 号峰来自生姜。综合 15 批小续命汤基准样品相对保留时间结果,确定了小续命汤基准样品特征图谱鉴别标准,供试品特征图谱中应有 18 个特征

峰,以 12 号峰为参照峰(S 峰),计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间见表 4,其相对保留时间偏差应在规定值的 ±10% 之内。规定值为 0.220(峰 1)、0.228(峰 2)、0.457(峰 3)、0.509(峰 4)、0.522(峰 5)、0.591(峰 6)、0.612(峰 7)、0.648(峰 8)、0.852(峰 9)、0.869(峰 10)、0.930(峰 11)、1.147(峰 13)、1.219(峰 14)、1.366(峰 15)、1.491(峰 16)、1.506(峰 17)、1.530(峰 18)。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

- 1. 盐酸麻黄碱 2. 盐酸伪麻黄碱 3. 芍药苷
- 4. 升麻素苷 5. 阿魏酸 9.5-O-甲基维斯阿米醇苷
- 10. 防己诺林碱 11. 粉防己碱 12. 黄芩苷
- 14. 汉黄芩苷 15. 黄芩素 16. 甘草酸铵 18.6-姜辣素

图 3 小续命汤对照品溶液及供试品溶液特征图谱

2.3 含量测定方法的建立

2.3.1 色谱条件

同“2.2.1”项。

2.3.2 供试品制备

按“2.2.2”项制备即得。

2.3.3 对照品溶液的制备

精密称取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、芍药苷对照品、升麻素苷对照品、汉黄芩苷对照品、黄芩苷对照品、黄芩素对照品、甘草酸铵对照品、粉防己碱对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 各含 0.05,0.034,0.18,0.038,0.101,0.482,0.015,0.047,0.015 mg 的混合对照品溶液,作为对照品参照物溶液。

2.3.4 方法学考察

2.3.4.1 专属性

按照“2.1”确定的基准样品制备方法制备不含麻黄、防己、黄芩、甘草、白芍、防风的阴性基准样品。取混合对照品、供试品及阴性溶液,按照“2.2.1”项确定的色谱条件进行 HPLC 分析,记录色谱图。见图 4。

表 4 15 批小续命汤基准样品特征峰相对保留时间

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
1	0.220	0.219	0.219	0.220	0.219	0.221	0.220	0.220	0.219	0.219	0.221	0.220	0.220	0.220	0.221
2	0.228	0.228	0.228	0.228	0.227	0.229	0.229	0.229	0.227	0.228	0.229	0.229	0.229	0.228	0.229
3	0.457	0.457	0.457	0.457	0.458	0.458	0.458	0.458	0.456	0.456	0.457	0.457	0.457	0.458	0.457
4	0.509	0.509	0.509	0.509	0.510	0.511	0.510	0.511	0.507	0.508	0.510	0.509	0.510	0.510	0.509
5	0.522	0.522	0.522	0.522	0.523	0.523	0.523	0.524	0.521	0.521	0.523	0.522	0.522	0.523	0.522
6	0.591	0.591	0.591	0.591	0.593	0.593	0.592	0.594	0.590	0.590	0.592	0.592	0.591	0.590	0.591
7	0.611	0.611	0.611	0.612	0.613	0.613	0.613	0.614	0.611	0.611	0.612	0.611	0.611	0.610	0.611
8	0.643	0.642	0.642	0.643	0.644	0.644	0.644	0.645	0.642	0.642	0.643	0.643	0.643	0.641	0.642
9	0.853	0.853	0.853	0.853	0.853	0.853	0.853	0.852	0.853	0.853	0.851	0.850	0.851	0.851	0.851
10	0.869	0.869	0.869	0.869	0.869	0.869	0.869	0.868	0.869	0.869	0.868	0.868	0.869	0.868	0.869
11	0.930	0.930	0.930	0.930	0.929	0.929	0.929	0.929	0.929	0.929	0.929	0.929	0.931	0.930	0.930
13	1.147	1.147	1.147	1.147	1.147	1.147	1.147	1.147	1.146	1.146	1.148	1.148	1.147	1.145	1.146
14	1.470	1.216	1.749	1.609	2.324	1.797	1.894	1.744	1.171	1.633	1.131	1.669	1.070	1.109	1.807
15	1.366	1.367	1.367	1.367	1.366	1.366	1.367	1.367	1.366	1.366	1.367	1.366	1.367	1.366	1.367
16	0.585	0.510	0.718	0.465	0.793	0.333	0.483	0.783	0.479	0.418	0.574	1.029	0.573	0.380	0.589
17	1.507	1.508	1.507	1.507	1.507	1.507	1.508	1.504	1.508	1.508	1.504	1.503	1.504	1.502	1.503
18	1.530	1.531	1.531	1.531	1.532	1.531	1.531	1.527	1.532	1.531	1.527	1.527	1.529	1.528	1.528

2.3.4.2 线性

精密量取对照品混合母液,分别稀释系列浓度的对照品溶液,按“2.2.1”项的色谱条件进行 HPLC 分析,考察峰面积与浓度之间的线性关系。见表 5。

2.3.4.3 精密度

取同一供试品溶液,按照“2.2.1”项色谱条件进行 HPLC 分析,连续进样 6 次记录色谱图。分别测定各指标成分的峰面积,计算 RSD。结果见表 5。

2.3.4.4 稳定性

取同一供试品溶液,按照“2.2.1”项的色谱条件进行分析,分别于 0,2,4,8,12,24 h 进样,测定各指标成分的峰面积,计算 RSD。结果见表 5。

2.3.4.5 重复性

分别精密称取同一批次基准样品粉 0.15,0.3,0.45 g 各 3 份,按“2.2.2”项的方法制备供试品溶液,并按照“2.2.1”项的色谱条件依次进行 HPLC 分析,测定各指标成分的峰面积,计算 RSD。结果见表 5。

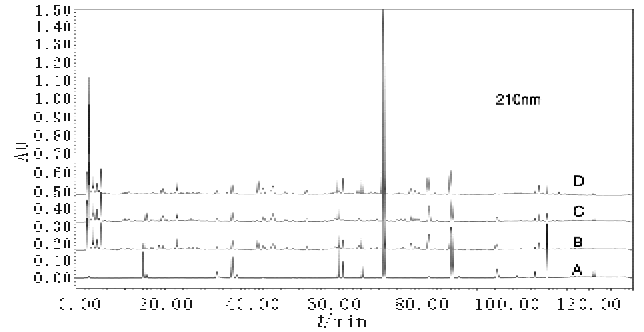
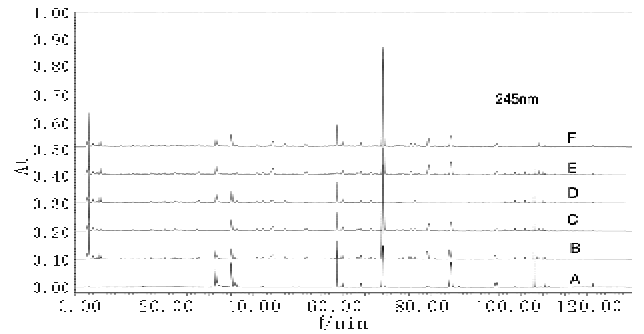
2.3.4.6 加样回收率

精密称取 0.15 g 与重复性同一批次基准样品粉末 9 份,分别按照已知各指标成分含量的 1:0.5、1:1、1:1.5 比例精密量取对照品混合母液适量,按“2.3.3”项的方法稀释至适宜浓度制备对照品混合溶液;以对照品混合溶液为提取溶剂,按“2.2.2”项的方法制备供试品溶液,每个浓度平行 3 份;并按照“2.2.1”项的色谱条件依次进行 HPLC 分析,测定各指标成分的含量,计算其加样回收率。见表 5。

2.3.5 15 批小续命汤基准样品含量测定及量值传递分析

取 15 批小续命汤基准样品,按“2.2.2”项的供试品溶液制备方法分别制备 15 批小续命汤供试品溶液,每批平行 2 份;按“2.2.1”项的色谱条件依次进行 HPLC 分

析,计算 15 批小续命汤基准样品中各指标成分的含量,见表 6,并计算饮片到基准样品的量值传递,结果见表 7。



245 nm: A. 对照品溶液 B. 小续命汤样品 C. 白芍阴性样品 D. 黄芩阴性样品 E. 防风阴性样品 F. 甘草阴性样品;

210 nm: A. 对照品溶液 B. 小续命汤样品 C. 防己阴性样品 D. 麻黄阴性样品

图 4 小续命汤专属性考察 HPLC 图

根据上述含量测定结果可知,15 批小续命汤基准样品中盐酸麻黄碱含量在 1.29 ~ 2.02 mg · g⁻¹,盐酸伪麻黄碱含量在 0.50 ~ 1.82 mg · g⁻¹,芍药苷含量在 7.34 ~ 10.93 mg · g⁻¹,黄芩苷含量在 19.33 ~ 26.81 mg · g⁻¹,汉黄芩苷含量在 3.76 ~ 6.00 mg · g⁻¹,甘草酸铵含量在 1.19 ~ 3.27 mg · g⁻¹,升麻素苷含量在

1.38 ~ 2.12 mg · g⁻¹, 粉防己碱含量在 0.17 ~ 0.48 mg · g⁻¹, 黄芩素含量在 0.35 ~ 0.64 mg · g⁻¹ 参照《意见稿》规定, 指标性成分含量波动范围一般不超过均值的 70% ~ 130%^[9]。根据表 6 可知, 除盐酸伪麻

黄碱、粉防己碱与甘草酸铵外 15 批次小续命汤基准样品中各指标成分含量稳定在合格范围内。经文献查证中药材来源产地会影响其质量, 导致盐酸伪麻黄碱, 粉防己碱与甘草酸铵的含量不在范围内^[10,11]。

表 5 小续命汤基准样品含量测定方法学考察

成分	线性关系	RSD/%			加样回收率/%
		精密度	稳定性	重复性	
麻黄碱	$Y = 22616961.8983X + 13768.8703$ ($r = 0.9997$)	0.91	0.84	1.11	100.89
伪麻黄碱	$Y = 23910343.8032X + 9496.1423$ ($r = 0.9994$)	0.95	1.45	1.66	98.98
芍药苷	$Y = 489289170.75832X + 13655.69067$ ($r = 0.9996$)	0.97	0.93	1.71	103.28
升麻素苷	$Y = 2351118103.10571X + 9155.59002$ ($r = 0.9998$)	1.35	1.02	1.18	97.80
粉防己碱	$Y = 9770768300.28136X - 23476.61784$ ($r = 0.9998$)	1.38	1.85	1.75	101.06
黄芩苷	$Y = 1482164145.91916X + 110395.49509$ ($r = 0.9998$)	1.39	1.34	1.84	97.78
汉黄芩苷	$Y = 1157248971.17308X + 7369.98282$ ($r = 0.9998$)	1.34	1.29	1.54	98.65
黄芩素	$Y = 6816256917.08010X - 8318.28887$ ($r = 0.9998$)	1.53	1.01	1.36	100.99
甘草酸铵	$Y = 872641417.06795X + 4667.81506$ ($r = 0.9998$)	1.41	1.30	1.55	101.88

表 6 15 批小续命汤基准样品中指标成分含量

批号	mg · g ⁻¹								
	芍药苷	升麻素苷	粉防己碱	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	甘草酸铵	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱
S1	10.09	1.86	0.48	26.81	5.00	0.62	2.62	1.29	1.22
S2	8.40	1.72	0.40	22.32	4.43	0.49	2.45	1.84	0.75
S3	7.99	1.42	0.45	22.45	4.24	0.54	2.29	1.94	0.86
S4	7.53	1.42	0.26	21.75	3.81	0.51	1.45	1.93	0.78
S5	8.79	1.48	0.21	22.36	3.96	0.58	1.78	1.73	0.50
S6	10.08	1.82	0.32	24.13	5.82	0.40	1.42	2.02	0.61
S7	7.34	1.38	0.48	19.33	3.56	0.47	1.19	1.69	0.46
S8	9.39	1.65	0.18	22.34	5.50	0.35	2.98	1.87	0.58
S9	9.03	2.12	0.24	23.69	6.00	0.37	3.20	1.78	1.82
S10	8.62	1.81	0.42	20.62	5.09	0.35	1.71	1.96	0.78
S11	10.93	2.03	0.21	25.75	4.70	0.64	3.01	1.97	0.70
S12	8.83	1.50	0.17	21.14	3.76	0.49	3.05	1.72	0.59
S13	9.10	2.05	0.21	25.66	4.63	0.62	3.27	1.92	1.15
S14	9.34	1.98	0.29	22.96	5.73	0.37	2.58	1.99	1.21
S15	8.51	1.47	0.21	21.80	3.85	0.64	1.66	1.73	0.52

表 7 15 批小续命汤饮片到基准样品转移率

批号	饮片到基准样品的转移率/mg · g ⁻¹									出膏率/%
	芍药苷	升麻素苷	粉防己碱	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	甘草酸铵	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱	
S1	62.01	58.36	8.01	29.28	13.58	8.21	20.70	27.32	48.84	11.31
S2	44.65	38.77	5.24	17.58	13.04	5.95	19.57	38.38	56.90	9.58
S3	47.95	31.44	7.02	22.48	15.20	9.71	20.93	41.03	34.00	10.81
S4	35.47	34.97	4.32	18.75	11.66	6.68	7.33	39.04	58.26	9.37
S5	49.04	76.67	2.79	19.24	10.88	6.97	25.20	35.88	38.58	9.42
S6	53.09	48.96	3.42	22.01	13.99	10.51	6.58	42.07	45.76	9.53
S7	41.79	37.64	5.98	19.35	13.27	9.39	5.23	35.80	37.22	9.62
S8	52.10	41.45	2.13	19.70	13.18	9.25	26.08	42.93	44.59	9.68
S9	49.30	50.51	2.69	23.54	13.88	9.02	24.88	34.75	66.88	9.68
S10	46.51	52.40	6.18	19.81	11.64	8.22	8.13	44.13	59.64	11.15
S11	66.55	50.59	3.39	29.22	17.54	9.69	27.35	53.01	63.93	10.99
S12	48.47	53.86	2.01	20.96	13.01	6.92	21.73	43.74	53.53	10.25
S13	48.96	46.48	3.66	24.17	14.34	7.18	12.61	35.73	40.08	11.19
S14	50.65	47.35	3.35	21.98	16.28	4.18	19.62	39.12	44.32	11.17
S15	46.05	75.93	3.63	19.14	11.53	7.62	8.12	39.16	44.36	11.28

3 讨论

3.1 基准样品煎煮工艺的考察

《千金要方》中记载该方制法为“麻黄、防己、人参、黄芩、肉桂、甘草、芍药、芎、杏仁各一两, 附子一枚,

防风一两半, 生姜五两。上十二味, 口父咀, 以水一斗二升, 先煮麻黄三沸, 云沫, 纳诸药, 煮取三升。分三服, 甚良。”结合王梦蕾等^[12]信息考证确定小续命汤的煎煮方法为“12 味药材加水 2400 mL, 先煮麻黄“三沸”并去沫, 再加剩余药材, 煮取 600 mL, 分 3 次温

服。”实验前期对药材进行浸泡、煎煮。并对煎煮时间进行考察,将浸泡 30 min 后的药材分别煎煮 75, 90, 105 min。以各成分含量为主要依据,对煎煮时间进行考察。结果表明煎煮 90 min 后的各指标成分含量最高。

3.2 供试品溶液制备方法的考察

本实验考察 25% 甲醇水、50% 甲醇水、75% 甲醇水、100% 甲醇 4 种提取溶剂,结果显示 75% 甲醇提取的小续命汤供试品溶液中各指标成分含量最高;本实验考察 0.2, 0.3, 0.4 g 3 种冻干粉取样量,结果显示在 0.2~0.4 g 范围内指标成分含量与取样量成正比;本实验考察回流提取、超声提取(功率 200W, 频率 40 kHz)2 种提取方式。结果显示超声较回流提取更完全,且超声提取的样品重复性更好;实验考察 20, 30, 40, 50 min 4 种提取时间,结果显示提取 30 min 后的小续命汤供试品溶液中各指标成分含量达到饱和。故选择取样量为 0.3 g, 以 20 mL 75% 甲醇为提取溶剂,超声提取 30 min 制备供试品溶液。

本研究对易制毒类成分盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱与其他指标性成分进行了含量测定与量值传递分析。并在特征图谱中共表征了麻黄、黄芩等 8 味药材有效成分。为经典名方小续命汤的整体质量控制与评价提供参考。

参考文献:

[1] 李泽纯,洪震,芮汉巨,等. 浅议小续命汤的源流[J]. 内蒙古中

药, 2017, 36(15): 138.

- [2] 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](2022-09-16) <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/gongzu-odongtai/2022092727803.html>.
- [3] 唐·孙思邈. 李景荣, 等, 校释. 备急千金要方校释[M]. 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 3.
- [4] 裴晓婷, 彭雷, 陈卫东. 小续命汤历史沿革、有效成分组、药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(10): 120.
- [5] 李忠红, 倪坤仪, 杜冠华. 中药复方小续命汤抗阿尔茨海默病有效成分组中 6 种有效成分的同时测定[J]. 色谱, 2007(1): 80.
- [6] 杨洪军, 黄璐琦. 经典名方的研发—中医药传承发展的突破口之一[J]. 中国现代中药, 2018, 20(7): 775.
- [7] 李月, 高敏洁, 高静. 基于政策梳理的古代经典名方中药复方制剂转化探讨[J]. 上海医药, 2023, 44(13): 16.
- [8] 张原, 李宁馨. 为中华中草药经典名方保护研发建言[N]. 政协协报, 2021-08-09(6).
- [9] 国家药品监督管理局综合司. 公开征求古代经典名方中药复方制剂及其物质基准申报资料要求(征求意见稿)意见[EB/OL]. (2019-03-22) [2021-11-04]. <https://www.nmpa.gov.cn/xzqk/zhqyj/zhqjyyp/20190327150101694.html>.
- [10] 沈小芬, 王璟璐, 何佳雯, 等. 产地差异对中药药性的影响与管理办法[J]. 中医药管理杂志, 2023, 31(3): 133.
- [11] 蔡文焯. 影响中药质量十大因素的初步探讨[J]. 海峡药学, 2014, 26(3): 43.
- [12] 王梦雷, 陈平, 核雨婷, 等. 古代经典名方小续命汤的处方关键信息考证[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(4): 179.

Study on the value transfer of critical quality attributes in the benchmark samples of Xiaoxuming Decoction (小续命汤)

LIU Zhen-yin^{1,2}, WANG Xue-ying^{1,2}, WANG Xue-yi^{1,2}, WANG Jun-shuai^{1,2}, LIU Yong-li^{2*}

(1. School of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475004, China; 2. Hebei Institute for Drugs and Medical Devices Control, Shijiazhuang 050200, China)

Abstract; Objective To establish the characteristic chromatogram and a multi-component content determination method for the benchmark samples of the classical prescription Xiaoxuming Decoction (小续命汤, XXMT). **Methods** HPLC was employed to assign characteristic peaks and determine the contents of 15 batches of benchmark samples, followed by quantitative transfer analysis. **Results** The characteristic chromatogram of the 15 batches of benchmark samples showed 18 common characteristic peaks, with 13 peaks identified as ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, and others. The similarity of the chromatograms ranged between 0.998 and 0.999. The contents of the benchmark samples were as follows: ephedrine hydrochloride (1.29 - 2.02 mg · g⁻¹), pseudoephedrine hydrochloride (0.50 - 1.82 mg · g⁻¹), paeoniflorin (7.34 - 10.93 mg · g⁻¹), baicalin (19.33 - 26.81 mg · g⁻¹), wogonoside (3.76 - 6.00 mg · g⁻¹), ammonium glycyrrhizinate (1.19 - 3.27 mg · g⁻¹), cimifugoside (1.38 - 2.12 mg · g⁻¹), tetrandrine (0.17 - 0.48 mg · g⁻¹), and baicalein (0.35 - 0.64 mg · g⁻¹). **Conclusion** The established characteristic chromatogram and multi-component content determination method are simple, feasible, and demonstrate good reproducibility and stability, providing a foundation for quality evaluation of benchmark samples and preparations of the classical prescription XXMT.

Key words: Xiaoxuming Decoction (小续命汤); Classical prescription; Benchmark samples; Characteristic chromatogram

(责任编辑:熊久林)