芩黄利咽颗粒提取工艺优化及其质量控制

赵娟娟， 叶侃倜， 叶芷希， 郑沁乐， 陆蕙兰， 杨 骏*
（上海市黄浦区香山中医医院药剂科，上海 200020）

摘要：目的 优化芩黄利咽颗粒提取工艺，并控制其质量。**方法** 在单因素试验基础上，以提取次数、提取时间、加水量为影响因素，干膏得率为评价指标，正交试验优化提取工艺。TLC 法定性鉴别金银花、玄参、太子参，HPLC 法测定黄芩苷含量。**结果** 最佳条件为提取次数 3 次，提取时间 1.0 h，加水量 10 倍，干膏得率为 59.26%。TLC 斑点清晰，专属性良好。黄芩苷在 3.606 3～360.632 4 μg/mL 范围内线性关系良好（r = 0.999 0），平均加样回收率为 96.97%，RSD 为 1.51%。**结论** 该方法简便准确，重复性好，可行性高，可为芩黄利咽颗粒的质量控制提供依据。

关键词： 芩黄利咽颗粒；提取工艺；质量控制；正交试验；TLC；HPLC
中图分类号： R284.2 **文献标志码：** B **文章编号：** 1001-1528(2025)07-2354-05
doi：10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.036

慢性咽炎是一种影响咽部黏膜、黏膜下层及淋巴组织的上呼吸道慢性疾病，其特点在于病程迁延不愈、症状表现顽固、易反复发作、治愈难度高等[1]，主要表现为咽喉部干燥疼痛甚至有灼烧感，常伴有咽异物感、黏痰感、频频清嗓等症状[2]，严重影响患者生活质量。目前，西医治疗慢性咽炎首选抗生素，能快速有效地应对症状，但会产生耐药菌株、不良反应、菌群失调、二次感染等危害[3]，此外口服激素类药物及灼烧、激光、射频、微波等物理疗法也是常用方式，但药物极易产生副作用，而物理疗法仅能缓解局部症状[4]。近年来，中药口服、外敷、雾化，针刺，推拿等手段能安全有效地减轻慢性咽炎患者咽喉部干燥疼痛，而且不良反应小，复发率低，体现了中医药在该方面的优势[5-7]。

芩黄利咽颗粒系上海市黄浦区香山中医医院临床协定方，以药茶形式广泛使用多年，疗效确切，无不良反应[8]，由黄芩、玄参、生地黄、麦冬、太子参、桑叶、桔梗、金银花 8 味中药组成，具有滋阴生津、清热利咽功效，但仍存在一定的局限性，如疗效受茶包材质适用性、药材基原产地、生产流程工艺等多种外部因素影响；未建立质量控制方法，无法保证其稳定性等[9-10]。因此，课题组前期按照《上海市食品药品监督管理局关于对本市医疗机构应用传统工艺配制中药制剂实施备案管理的通告》2018 年（第 28 号）[11]要求，将原方开发成服用携带方便、适用范围广、稳定性好等适应现代生活和社会发展需要的颗粒剂。本实验采用正交试验优化芩黄利咽颗粒提取工艺，并建立金银花、玄参、太子参的 TLC 定性鉴别方法，以及黄芩苷的 HPLC 含量测定方法，以期为该制剂基础研究、其他院内中药制剂开发和临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器 全自动点样仪（型号 SP-Ⅲ）、薄层色谱数码成像系统（型号 GOODSEE-20E）（上海科哲生化科技有限公司）；电子天平［型号 BSA822，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司］；Agilent 1260 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）。

1.2 试剂、药材与药物 绿原酸（批号 110753-202119）、哈巴俄苷（批号 111730-201709）对照品及太子参对照药材（批号 121004-201408）（中国食品药品检定研究院）；黄芩苷对照品（上海诗丹德生物技术有限公司，批号 0678）。玄参（产地湖北，批号 20220722-1）、生地黄（产地河南，批号 20220727-1）、麦冬（产地四川，批号 20220728-1）、太子参（产地福建，批号 20220716-1）、桑叶（产地浙江，批号 20220801-1）、桔梗（产地安徽，批号 20220512-1）、黄芩（产地河北，批号 20220216-2）、金银花（产地山东，批号 20220430-1）（上海万仕诚药业有限公司），经专家鉴定为正品。芩黄利咽颗粒（上海万仕诚药业有限公司，批号 20220801、20220802、20220803）。甲醇、乙酸丁酯、甲酸、正丁醇、冰醋酸、三氯甲烷、磷酸均为分析纯（上海凌峰化学试剂有限公司）。

2 提取工艺优化

2.1 单因素试验

2.1.1 浸泡时间 称取处方药材各 6 g，平行 3 份，加入 8 倍量水分别浸泡 30、45、60 min，过滤，记录剩余水量，

收稿日期： 2024-09-11
基金项目： 上海市黄浦区卫生健康委科研项目（HLQ202215）；上海市黄浦区卫生健康系统专业人才梯队建设项目（2023GG08）
作者简介： 赵娟娟（1995—），女，硕士生，中药师，从事医院中药制剂研究。Tel：（021）53061730—8907，E-mail：17862924701@163.com
*通信作者：** 杨 骏（1975—），男，主任药师，从事中药制剂研发、利用工作。Tel：（021）53061730—8210，E-mail：zhao11131113@126.com

计算吸水量，公式为吸水量=［（加水量-剩余水量）/药材质量］×100%，结果见表 1。由此可知，随着浸泡时间延长吸水量逐渐升高，虽然浸泡 60 min 时明显高于浸泡 45 min 时，但增加程度不高，表明 60 min 左右吸水基本饱和，并且此时药材充分软化，断面完全浸透，考虑到生地黄、玄参、太子参等为均根茎类药材，为保证其有效成分充分溶出，缩短后续煎煮时间，提高生产效率，最终确定为 60 min。

表 1 浸泡时间考察结果（n=3）

评价指标	试验号	浸泡时间/min		
		30	45	60
吸水量/%	1	77. 78	100. 00	111. 11
	2	77. 77	93. 33	102. 22
	3	82. 22	100. 00	110. 00
平均值/%		79. 26	97. 78	107. 78
RSD/%		3. 24	3. 94	4. 49

2. 1. 2 提取次数 称取处方药材各 6 g，平行 3 份，加入 8 倍量水浸泡 60 min，分别提取 1、2、3 次，每次 1. 0 h，合并提取液，计算干膏得率，结果见表 2。由此可知，随着提取次数增加干膏得率升高，提取 3 次时明显高于提取 1、2 时，故为了尽可能地将有效成分提取完全，最终确定为 3 次。

表 2 提取次数考察结果（n=3）

评价指标	试验号	提取次数/次		
		1	2	3
干膏得率/%	1	32. 71	45. 83	52. 92
	2	32. 53	44. 60	50. 00
	3	33. 33	43. 00	49. 92
平均值/%		32. 86	44. 48	50. 95
RSD/%		1. 29	3. 19	3. 35

2. 1. 3 提取时间 称取处方药材各 6 g，平行 3 份，加入 8 倍量水浸泡 60 min，分别提取 0. 5、1. 0、1. 5 h 各 3 次，合并提取液，计算干膏得率，结果见表 3。由此可知，提取 1. 0、1. 5 h 时干膏得率明显高于提取 0. 5 h 时，但前两者之间无显著差异，综合考虑能耗、成本等因素，最终确定为 1. 0 h。

表 3 提取时间考察结果（n=3）

评价指标	试验号	提取时间/h		
		0. 5	1. 0	1. 5
干膏得率/%	1	49. 32	51. 19	53. 25
	2	49. 05	52. 30	51. 98
	3	48. 65	52. 45	52. 10
平均值/%		49. 01	51. 98	52. 44
RSD/%		0. 68	1. 33	1. 34

2. 1. 4 加水量 称取处方药材各 6 g，平行 3 份，分别加 6、8、10 倍量水浸泡 60 min，提取 3 次，每次 1. 0 h，合并提取液，计算干膏得率，结果见表 4。由此可知，加 10 倍量水时干膏得率明显高于加 6、8 倍量水时，故为了确保溶剂与原料充分接触，提高有效成分的溶解度和提取率，最终确定为 10 倍。

表 4 加水量考察结果（n=3）

评价指标	试验号	加水量/倍		
		6	8	10
干膏得率/%	1	45. 42	44. 48	50. 02
	2	43. 17	43. 33	50. 42
	3	44. 84	46. 27	49. 59
平均值/%		44. 47	44. 69	50. 01
RSD/%		2. 63	3. 31	0. 82

2. 2 正交试验 在单因素试验基础上，根据实际生产情况结合文献［12-13］报道，选择提取次数（A）、加水量（B）、提取时间（C）作为影响因素，干膏得率（Y）作为评价指标，因素水平见表 5，结果见表 6。由此可知，各因素影响程度依次为 $A>B>C$；最优工艺为 $A_3B_3C_3$，即加 10 倍量水提取 3 次，每次 1. 5 h。

表 5 正交试验因素水平

水平	因素		
	A 提取次数/次	B 加水量/倍	C 提取时间/h
1	1	6	0. 5
2	2	8	1. 0
3	3	10	1. 5

表 6 试验设计与结果

试验号	因素				Y 干膏得率/%
	A 提取次数/次	B 加水量/倍	C 提取时间/h	D(空白)	
1	1	1	1	1	27. 74
2	1	2	2	2	34. 06
3	1	3	3	3	39. 27
4	2	1	2	3	47. 99
5	2	2	3	1	53. 59
6	2	3	1	2	53. 14
7	3	1	3	2	54. 45
8	3	2	1	3	53. 63
9	3	3	2	1	51. 97
K_1	101. 07	130. 18	134. 51	133. 30	—
K_2	154. 72	141. 28	134. 02	141. 65	—
K_3	160. 05	144. 38	147. 31	140. 89	—
R	58. 98	14. 20	13. 29	8. 35	—

在实际生产过程中，还需考虑资源、时间等因素，从而提高生产效率。由于方差分析（表 7）中因素 A 对干膏得率有显著影响（$P<0.05$），而 B、C 均无显著影响（$P>0.05$），故对后两者进行调整，结合单因素试验，最终确定为 $A_3B_3C_2$，即加 10 倍水量浸泡 60 min，提取 3 次，每次 1.0 h。

表 7　方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	709.486	2	354.743	49.922	0.020
B	37.162	2	18.581	2.615	0.277
C	37.856	2	18.928	2.664	0.273
D(空白)	14.212	2	7.106	—	—

注：$F_{0.05}$（2，2）= 19.000，$F_{0.01}$（2，2）= 99.0。

按上述优化工艺进行 3 批验证试验，结果见表 8，可知该工艺稳定可行。

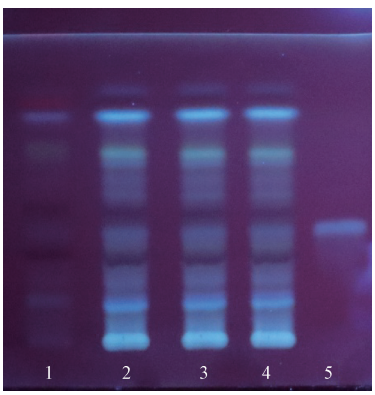
表 8　验证试验结果（$n=3$）

试验号	干膏得率/%
1	60.16
2	57.69
3	59.92
平均值/%	59.26
RSD/%	2.30

3　质量控制

3.1　TLC 定性鉴别　参照文献［14］报道。

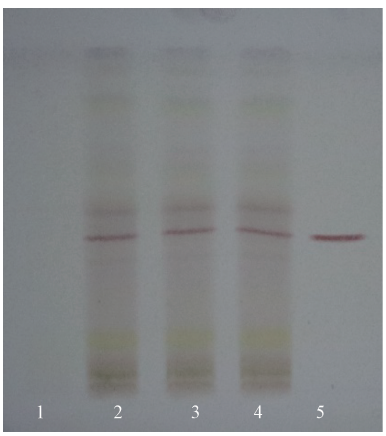
3.1.1　金银花　将本品研细，取约 0.2 g，加 5 mL 甲醇，静置 12 h，过滤，取滤液，作为供试品溶液；取绿原酸对照品适量，加甲醇制成 1 mg/mL 对照品溶液；取除金银花以外的其余饮片适量，按照生产工艺制备阴性样品，取约 0.2 g，同法制成阴性样品溶液。吸取供试品、阴性样品溶液各 20 μL，对照品溶液 10 μL，点于同一硅胶 H 薄层板上，以乙酸丁酯-甲酸-水（7∶2.5∶2.5）的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，在 365 nm 紫外光灯下检视，结果见图 1。由此可知，供试品溶液在对照品溶液相同位置处呈现颜色一致的荧光斑点。



注：1 为缺金银花阴性样品，2～4 为供试品（批号 20220801、20220802、20220803），5 为绿原酸对照品。

图 1　金银花 TLC 色谱图

3.1.2　玄参　将本品研细，取约 2 g，加 25 mL 甲醇浸泡 1 h，超声处理 30 min，过滤，滤液蒸干，残渣加 25 mL 水溶解，水饱和正丁醇振摇提取 2 次，每次 30 mL，合并正丁醇液，蒸干，残渣加 5 mL 甲醇溶解，作为供试品溶液；取哈巴俄苷对照品适量，加甲醇制成 1 mg/mL 对照品溶液；取除玄参以外的其余饮片适量，按照生产工艺制备阴性样品，取约 2 g，同法制成阴性样品溶液。吸取上述 3 种溶液各 4 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（12∶4∶1）的下层溶液为展开剂，置于预饱和 15 min 的展开缸中，展开，取出，晾干，喷以 5% 香草醛硫酸溶液，热风吹至斑点显色清晰，结果见图 2。由此可知，供试品溶液在对照品溶液相同位置处呈现颜色一致的荧光斑点。



注：1 为缺玄参阴性样品，2～4 为供试品（批号 20220801、20220802、20220803），5 为哈巴俄苷对照品。

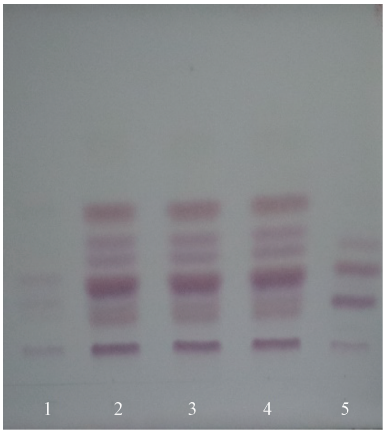
图 2　玄参 TLC 色谱图

3.1.3　太子参　将本品研细，取约 1 g，加 10 mL 甲醇温浸，振摇 30 min，过滤，滤液浓缩至 1 mL，作为供试品溶液；取太子参对照药材 1 g，同法制成对照药材溶液；取除太子参以外的其余饮片适量，按照生产工艺制备阴性样品，取约 1 g，同法制成阴性样品溶液。吸取上述 3 种溶液各 1 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以正丁醇-冰醋酸-水（4∶1∶1）为展开剂，置于预饱和 15 min 的展开缸中，展开，取出，晾干，喷以 0.2% 茚三酮乙醇溶液，在 105 ℃下加热至斑点显色清晰，结果见图 3。由此可知，供试品溶液在对照品溶液相同位置处呈现颜色一致的荧光斑点。

3.2　黄芩苷含量测定　采用 HPLC 法。

3.2.1　色谱条件　ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相甲醇-水-磷酸（47∶53∶0.2）；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 315 nm；进样量 5 μL。理论塔板数按黄芩苷计，应不低于 3 000。

3.2.2　对照品溶液制备　精密称取黄芩苷对照品适量，加



注：1 为缺太子参阴性样品，2～4 为供试品（批号 20220801、20220802、20220803），5 为太子参对照药材。

图 3 太子参 TLC 色谱图

70% 乙醇制成质量浓度为 3.606 3 mg/mL 的溶液，即得。

3.2.3 供试品溶液制备 精密称取本品（批号 20220801）0.3 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 50 mL 70% 乙醇，称定质量，超声（功率 250 W，频率 50 kHz）处理 30 min，放冷，70% 乙醇补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液，即得。

3.2.4 阴性样品溶液制备 取除黄芩以外的其余饮片适量，按照生产工艺制成阴性样品，按“3.2.3”项下方法制备，即得。

3.2.5 专属性试验 精密量取对照品、供试品、阴性样品溶液各 5 μL，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 4。由此可知，供试品、对照品溶液在相同保留时间处均呈现对应色谱峰，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。

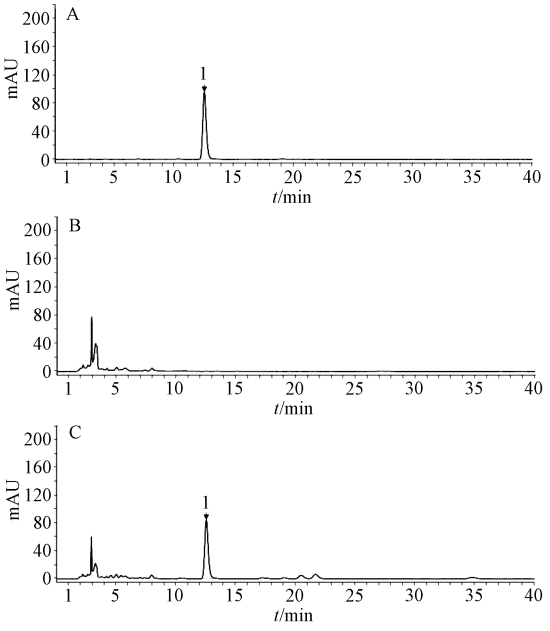
3.2.6 线性关系考察 取“3.2.2”项下对照品溶液适量，70% 乙醇稀释，制成质量浓度分别为 3.606 3、18.031 6、36.063 2、180.316 2、360.632 4 μg/mL 的溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程为 Y=11.313X+0.727 6（r=0.999 0），在 3.606 3～360.632 4 μg/mL 范围内线性关系良好。

3.2.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μL，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得黄芩苷峰面积 RSD 为 0.90%，表明仪器精密度良好。

3.2.8 重复性试验 取本品（批号 20220801）6 份，每份约 0.3 g，精密称定，按“3.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芩苷含量 RSD 为 0.30%，表明该方法重复性良好。

3.2.9 稳定性试验 取本品（批号 20220801）适量，按“3.2.3”项下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、8、16、24 h 在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芩苷峰面积 RSD 为 0.40%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.2.10 加样回收率试验 取本品（批号 20220801，黄芩苷含量约为 3.489 3 mg/0.15 g）6 份，每份约 0.15 g，精密称定，加入 1 mL 3.606 3 mg/mL 对照品溶液，按“3.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，黄芩苷平均加样回收率为 96.97%，RSD 为 1.51%。



注：A～C 分别为对照品、阴性样品、供试品。

1. 黄芩苷

图 4 黄芩苷 HPLC 色谱图

3.2.11 样品含量测定 取 3 批样品，按“3.2.3”项下方法平行制备 3 份供试品溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，计算含量。结果见表 9。

表 9 黄芩苷含量测定结果（n=3）

批号	含量/(mg·g^{-1})
20220801	23.262 0
20220802	24.150 6
20220803	24.127 3

4 讨论

4.1 剂型、提取工艺选择 芩黄利咽方中生地黄、玄参等药材的主要活性成分为多糖[15-16]，其含量较高，导致制备时浸膏黏性大，为了便于制剂成型及提高成型效率，往往需增大辅料用量，故提高载药量是保证临床疗效的关键因素。颗粒剂作为中药复方制剂中广泛采用的载药形式，能完整保留各味药材的性味、归经及疗效，同时还具备载药量大、溶解迅速、起效快、工艺简单、易于批量生产等特点[17]。此外，考虑到该方药效成分复杂，作用靶点尚不清晰，为保证成品药效和稳定性，本实验采用颗粒剂作为芩黄利咽方的优化剂型，水提法作为其提取工艺。

4.2 质量控制方法建立 本实验对芩黄利咽颗粒中的生地黄进行 TLC 定性鉴别时，考察了不同制备方法、色谱条件、展开剂类型等，但均未能显示对应斑点，可能是由于梓醇等成分受热不稳定所致[18]。另外，桔梗、麦冬等因阴性干扰、目标斑点模糊、不易辨认等原因而无法进行鉴定，并

且改变样品处理方法、筛选检测手段、调整展开系统后仍无法排除。因此，本实验未对上述药材进行鉴别。

黄芩在芩黄利咽方中与桑叶、桔梗、金银花配伍，在养阴利咽之余兼顾清热解毒、清肺化痰，其主要成分黄芩苷具有抗炎、抗菌、抗病毒等药理作用，并具备免疫调节、神经元保护等活性[19-20]，同时含量较高。因此，本实验将黄芩苷纳入质量控制的指标成分。

4.3 展望 中药成方制剂的疗效往往源自多种活性成分的协同作用，故今后可依据芩黄利咽颗粒的功效和方解，结合各药味的药效物质特点，增加工艺跟踪指标成分，筛选更稳定可行的提取工艺，并且方中玄参、生地黄等主要药味尚未建立含量测定方法，有待于进一步完善以更好地控制该制剂质量。同时，还可对芩黄利咽颗粒进行纯化工艺、浓缩工艺、成型工艺、稳定性、作用机制等方面的研究，在获得医院制剂批准文号的同时将其开发成新药，从而为进一步扩大临床应用奠定基础。另外，考虑到芩黄利咽颗粒研发过程中可能面临的人员专业能力、经验及资金支持不足、市场竞争等方面的挑战，课题组应加强培训并借助政策支持，积极寻求与高校、科研机构及制药企业的合作，以期提升该制剂技术含量，推进其产业化进程。

参考文献：

[1] Wu Y, Zhang F, Kuang D, *et al*. Efficacy of botanical lozenges in the treatment of chronic pharyngitis: a randomized controlled trial[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1162883.
[2] 笈文娜, 颜美秋, 苏 洁, 等. 铁皮石斛不同部位对辣椒水复合氨水刺激致慢性咽炎模型大鼠的作用研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(9): 2525-2532.
[3] 郭佳茹, 商临萍. 抗菌药物滥用现状分析及管理对策[J]. 中国社会医学杂志, 2020, 37(5): 471-474.
[4] 蒙慧菊, 梁 逸, 何月洁, 等. 慢性咽炎的治疗与预防研究进展[J]. 中国临床新医学, 2013, 6(12): 1221-1225.
[5] 吴 瑞, 王竹风, 魏军平. 浅谈慢性咽炎的中医治疗[J]. 中医药信息, 2018, 35(5): 63-65.
[6] 王思佳, 陈世华, 黄佩蓓. 中药抗慢性咽炎作用机制研究进展分析[J]. 陕西中医药大学学报, 2021, 44(6): 127-131.
[7] 王雪杰, 汪常伟. 近十年中医治疗慢性咽炎的临床研究进展[J]. 新疆中医药, 2022, 40(1): 84-87.
[8] 施 磊, 陈剑姝, 张守杰, 等. 协定利咽茶防治慢性咽炎 80 例疗效观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(11): 2061-2064.
[9] 罗红丽. 影响中药汤剂疗效因素的分析及研究[J]. 北方药学, 2018, 15(1): 182-183.
[10] 阳长明, 陈 霞, 马秀璟, 等. 从国家药品抽检探索性研究谈中药制剂质量控制[J]. 中草药, 2023, 54(1): 1-7.
[11] 上海市食品药品监督管理局. 上海市食品药品监督管理局关于对本市医疗机构应用传统工艺配制中药制剂实施备案管理的通告[EB/OL]. (2018-07-02). https://www.shanghai.gov.cn/nw12344/20200813/0001-12344_56338.html.
[12] 丁然然, 杨明霞, 何承辉, 等. 消渴健脾胶囊制备工艺、质量标准研究[J]. 中成药, 2023, 45(9): 2852-2859.
[13] 薄双琴, 陈 晖, 曲 馨, 等. 多指标正交试验优选白蕾颗粒的提取纯化工艺[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(11): 2643-2647.
[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 59-60.
[15] 张留记, 王建霞, 屠万倩, 等. 生地黄与熟地黄中 5 个苷类成分和总多糖的含量比较[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(4): 566-571.
[16] Ren D, Shen Z Y, Qin L P, *et al*. Pharmacology, phytochemistry, and traditional uses of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 269: 113688.
[17] 黄 洁. 中药颗粒剂的优势与应用前景[J]. 中国社区医师, 2023, 39(9): 4-6.
[18] 龙冰玉, 张月月, 王君明, 等. 基于主要质控成分含量分析并结合古籍记载和现代演变的生地黄特色炮制评价[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(4): 887-891.
[19] 郑敏敏, 柳 洁, 赵 清. 药用植物黄芩的生物学研究进展及展望[J]. 生物技术通报, 2023, 39(2): 10-23.
[20] 黄玉普, 吴大章, 王 森. 黄芩的药理作用及其药对研究进展[J]. 中国药业, 2022, 31(15): 129-133.