

致小鼠肝损伤的机制研究[J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(7): 2768-2777.

[9] 文琦钰, 邓玲玉, 谢凤凤. 基于网络药理学探讨火炭母对乙型肝炎的作用[J]. 壮瑶药研究, 2023(2): 201-209; 388-389.

[10] 陈钰凤, 范 明, 马玉婷. 基于网络药理学的火炭母、凤尾草治疗溃疡性结肠炎的潜在机制研究[J]. 中国中医药图书情报杂志, 2023, 47(6): 59-64.

[11] 胡 莹, 梅全喜. 火炭母的研究进展[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(1): 121-123.

[12] 罗 静, 韦安达, 朱 华, 等. 广西产火炭母总黄酮提取工艺优化及含量测定[J]. 湖北农业科学, 2024, 63(1): 164-168; 256.

[13] 严慧如, 黄丹丹, 何静娜, 等. 正交设计法优选火炭母中总黄酮的提取工艺[J]. 广东化工, 2015, 42(11): 65-66.

[14] 任恒春, 万定荣, 谷 婧, 等. 火炭母化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(10): 1387-1389; 1411.

[15] 谢凤凤. 火炭母化学成分分析、解热抗炎药效物质研究及产品开发[D]. 南宁: 广西民族大学, 2023.

[16] 余秀琪, 谢凤凤, 潘秀雯, 等. GC-MS 测定火炭母与硬毛火炭母乙酸乙酯部位挥发性成分[J]. 壮瑶药研究, 2023(2): 76-78.

[17] 果佳慧, 高 乐, 甄亚钦, 等. 双标多测法同时测定地胆草中 11 种成分的含量[J]. 中成药, 2024, 46(11): 3557-3564.

[18] 王 媛, 杨元硕, 李思治, 等. HPLC 法同时测定槟榔四消丸中 15 种成分的含量[J]. 中成药, 2024, 46(8): 2493-2498.

[19] 黄 婷, 柳贤福, 陈汝旭, 等. 一测多评法同时测定不同配伍比例枳实-厚朴药对中 11 种成分的含量[J]. 中成药, 2024, 46(12): 3911-3917.

[20] 高世东, 刘晓甫, 郭晓艳, 等. 基于指纹图谱和多指标定量测定的蝎子草质量控制研究[J]. 中药材, 2023, 46(4): 951-954.

行气活血止痛膏制备工艺优化及其质量标准建立

冯 莉¹, 唐荣玉¹, 赖 勇¹, 李 润², 程 霖^{2*}
(1. 四川省第二中医医院, 四川 成都 610000; 2. 西南医科大学附属中医医院, 四川 泸州 646000)

摘要：**目的** 优化行气活血止痛膏制备工艺，并建立其质量标准。**方法** 在单因素试验基础上，以白凡士林、十八醇、PEG-40 氢化蓖麻油用量为影响因素，外观、延展性、耐热、耐寒、离心的综合评分为评价指标，正交试验优化制备工艺。再进行粒度、装量检查，TLC 法对黄连、血竭、乳香、没药进行定性鉴别，HPLC 法对栀子苷进行含量测定。**结果** 最佳条件为白凡士林用量 11 g，十八醇用量 5 g，PEG-40 氢化蓖麻油用量 5 g，所得棕黄色软膏具有冰片特殊气味。粒度和装量均符合相关规定。TLC 斑点清晰，分离度良好，阴性无干扰。3 批样品中栀子苷平均含量为 0.073%。**结论** 该制备工艺简便可行，稳定性良好；质量标准专属性强，重复性理想，可为行气活血止痛软膏生产及质量控制提供科学依据，也为其临床合理使用奠定坚实基础。

关键词：行气活血止痛膏；制备工艺；质量标准；正交试验；TLC；HPLC

中图分类号：R944 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2025)08-2679-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.031

静脉炎是一种由血管内皮细胞损伤引起的静脉炎症反应，常因反复的静脉穿刺或高浓度药物的长期刺激所致^[1-2]，本病临床表现多样，严重时可导致皮肤溃疡、感染、坏疽等症状^[3]。静脉炎在中医中属于“脉痹”范畴，是由内感或外伤、染毒、经脉创伤等致气血瘀滞、脉络闭塞不通而引起^[4-5]，其发生发展与多种因素有关，如静脉导管、药物刺激、感染、外伤等^[6]。近年来，静脉炎在我国的发病率逐年增高，尤其是在长期静脉输液患者中^[7]。

中医认为，静脉炎可能由气滞血瘀所致，针对该病机，课题组前期在民间验方的基础上开发出具有活血化瘀、行气止痛功效的行气活血止痛膏，临床研究表明该制剂对各期静脉炎均有显著治疗效果^[8-9]，它含有三棱、莪术、乳香、没药、黄连、栀子、红花、紫草、荆芥、血竭、冰片^[10]，具有破血行气、消积止痛、生肌敛疮之功^[11-13]，但目前其制备工艺不完善，缺乏质量标准^[14]。因此，本实验优化行气活血止痛膏制备工艺，并建立其质量标准，以期

收稿日期：2024-10-14
基金项目：四川省科技厅基本科研项目（2022-4-722）
作者简介：冯 莉（1979—），女，主任护师，从事中医护理技术慢病中应用、慢性创面中西医护理研究。Tel：13558763393，E-mail：798195531@qq.com
* 通信作者：程 霖（1977—），女，主任护师，从事中医护理、妇产科护理研究。Tel：13550886563，E-mail：253790188@qq.com

为该制剂临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 XS250 电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；TG328A9 电子分析天平（上海精密科学仪器有限公司）；SHB-ⅢS 循环水式多用真空泵（郑州长城科工贸有限公司）；DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器（巩义市予华仪器有限责任公司）；80-2B 离心机（上海安亭科学仪器厂）；DZF-6050 真空干燥箱、DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱、HWS24 电热恒温水浴锅（上海一恒科学仪器有限公司）；安捷伦 1100 高效液相色谱仪（美国安捷伦科技公司）；LG-200A 万能粉碎机（瑞安市百信药机械厂）；KQ-500E 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

1.2 试剂与药物 血竭素高氯酸盐（批号 110811-202108）、栀子苷（批号 110949-201919）、盐酸小檗碱（批号 110713-202015）对照品及血竭（批号 120906-201611）、乳香（批号 120970-202106）、没药（批号 120967-201706）对照药材均购自中国食品药品检定研究院。三棱（批号 220210）、莪术（批号 210312）、乳香（批号 220507）、没药（批号 211117）、黄连（批号 220316）、栀子（批号 220314）、红花（批号 220528）、紫草（批号 220209）、荆芥（批号 211222）、血竭（批号 JJ1900311001-020）均由四川省中药饮片有限责任公司提供；冰片（批号 220401）由江苏紫石中药饮片有限公司提供，经四川省中医药科学院中药资源与种植研究所周先建副研究员鉴定为正品。行气活血止痛流浸膏由课题组前期制备。实验所用试剂均为分析纯，购自成都市科龙化工试剂厂。

2 方法与结果

2.1 制备工艺优化

2.1.1 基质类型筛选 行气活血止痛膏组方药材为三棱、莪术、乳香、没药各 15 g，黄连、栀子、红花、紫草、荆芥各 10 g，血竭、冰片各 5 g，全方共 120 g，其最佳提取工艺为 10 倍量水煎煮 2 次，每次 1 h。软膏剂的常见基质可分为三大类，即油脂性、水溶性、乳剂型，其中乳剂型又可分为 W/O 型和 O/W 型。本实验以外观、色泽、肤感、涂展性为指标，对各类型基质进行评分，结果见表 1，可知 O/W 型总分最高，有着更好的外观、色泽、延展度，故选择其作为基质制备软膏。

表 1 不同基质评价结果（分）

类型	外观	色泽	涂展性	总分
油脂性	5	6	5	16
水溶性	3	4	4	11
W/O 型	6	7	6	19
O/W 型	8	9	8	25

2.1.2 单因素试验 O/W 型基质中白凡士林、羊毛脂、十八醇、液体石蜡、单硬脂酸甘油酯为油相，其中十八醇、单硬脂酸甘油酯还起到辅助乳化剂的作用，而液体石蜡可调节软膏剂稠度；丙二醇、水为水相，其中丙二醇起到保

湿作用，并且 PEG-40 氢化蓖麻油为主要乳化剂，氮酮为促皮吸收剂，羟苯乙酯为防腐剂。为了获得更好的乳膏基质质量，在其他条件不变的情况下选择对软膏剂影响较大的凡士林、硬脂醇、丙二醇和乳化剂来确定合适的水平范围，以便于保证优化的精确性。

2.1.2.1 乳化剂种类 常用乳化剂有三乙醇胺、十二烷基磺酸钠、PEG-40 氢化蓖麻油等，本实验固定乳化剂用量 3 g，发现 PEG-40 氢化蓖麻油综合评分最高。

2.1.2.2 PEG-40 氢化蓖麻油、白凡士林、十八醇、丙二醇用量 本实验分别考察 PEG-40 氢化蓖麻油用量 3、4、5、6 g，白凡士林用量 8、10、12、14 g，十八醇用量 4、6、8、10 g，丙二醇用量 7、10、13、16 g 对基质性能的影响，发现四者分别为 5、5、10、10~12 g 时综合评分最高。

2.1.3 正交试验 在单因素试验基础上，选择对软膏剂制备质量影响较大的白凡士林（A）、十八醇（B）、PEG-40 氢化蓖麻油（C）用量作为影响因素，外观、延展性、耐热、耐寒、离心的综合评分作为评价指标，进行 $L^9(3^4)$ 设计，因素水平见表 2。

表 2 正交试验因素水平

水平	A 白凡士林/g	B 十八醇/g	C PEG-40 氢化蓖麻油/g
1	10	5	4
2	11	6	5
3	12	7	6

称取 2 倍处方剂量药材（除血竭、冰片外），提取后浓缩得稠膏，计算综合评分，结果见表 3，方差分析见表 4。

由此可知，各因素影响程度依次为 $A>B>C$ ，并且均有显著影响（ $P<0.05$ ），最优工艺为白凡士林用量 11 g，十八醇用量 5 g，PEG-40 氢化蓖麻油用量 5 g。

2.1.4 制备流程 将硬脂醇、凡士林、羊毛脂、单硬脂酸甘油酯、液体石蜡加热至 80 ℃融化，作为油相；将丙二醇、PEG-40 氢化蓖麻油、氮酮、羟苯乙酯、流浸膏、蒸馏水混合，加热至 82 ℃，搅拌均匀，作为水相，将水相加到油相中，在 80 ℃下不断搅拌 10 min，停止加热，继续搅拌，冷却至 50 ℃，加入血竭、冰片（40 mL 乙醇溶解混匀），搅匀，即得。

2.2 质量标准建立

2.2.1 粒度、装量差异 参照 2020 年版《中国药典》四部通则 0982 第一法，取本品适量，置于载玻片上涂成薄层（其面积相当于盖玻片面积），发现未检出大于 180 μm 的粒子；再精密称取适量（平均装量不少于标识装量），发现每个容器装量均不少于标识装量的 93%，即均符合相关要求。

2.2.2 药材鉴别 采用 TLC 法。

2.2.2.1 黄连 取本品 20 g，置于具塞锥形瓶中，加 50 mL 甲醇超声处理 30 min，放冷，过滤，滤液置于蒸发皿中蒸干，残渣加 2 mL 甲醇溶解，作为供试品溶液；取黄连对照药材 0.1 g，同法制成对照药材溶液；取盐酸小檗碱对照

表 3 正交试验设计与结果（分）

试验号	A	B	C	外观	延展性	耐热	耐寒	离心	综合评分
1	1	1	1	7	10	6	10	6	39
2	1	2	2	8	8	6	10	10	42
3	1	3	3	7	8	6	10	6	37
4	2	1	2	10	8	10	10	10	48
5	2	2	3	7	7	10	10	10	44
6	2	3	1	8	7	6	10	6	39
7	3	1	3	7	8	10	10	6	41
8	3	2	1	4	5	6	10	10	35
9	3	3	2	6	5	6	10	10	37
K ₁	118	128	113	—	—	—	—	—	—
K ₂	131	121	127	—	—	—	—	—	—
K ₃	113	113	122	—	—	—	—	—	—
$\overline{K_1}$	39.333 3	42.666 7	37.666 7	—	—	—	—	—	—
$\overline{K_2}$	43.666 7	40.333 3	42.333 3	—	—	—	—	—	—
$\overline{K_3}$	37.666 7	37.666 7	40.666 7	—	—	—	—	—	—
R	6	5	4.666 7	—	—	—	—	—	—

表 4 方差分析结果

因素	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	57.555 6	2	28.777 8	64.750 0	0.015 2
B	37.555 6	2	18.777 8	42.250 0	0.023 1
C	33.555 6	2	16.777 8	37.750 0	0.025 8
误差	0.888 9	2	0.444 4	—	—

品适量，加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 该成分的溶液，作为对照品溶液。按照 2020 年版《中国药典》薄层色谱法（通则 0502），吸取对照品、对照药材溶液各 1 μL，供试品溶液 2 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨试液（8：1：1：1）为展开剂，在展开槽另一侧加 1 mL 浓氨试液，饱和 5 min，展开，取出，晾干，在紫外光灯（365 nm）下检视，发现供试品溶液色谱中在对照药材溶液相应位置上显示 4 个相同颜色的斑点，而在对照品溶液相应位置上显示相同的黄色斑点。

2.2.2.2 乳香、没药 分别取乳香对照药材 0.2 g、没药对照药材 0.1 g，加 10 mL 甲醇超声处理 30 min，过滤，滤液挥干，残渣加 1 mL 甲醇溶解，作为对照药材溶液。按照 2020 年版《中国药典》薄层色谱法（通则 0502），吸取“2.2.2.1”项下供试品溶液、上述对照药材溶液各 4 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60~90℃）-乙酸乙酯（19：2）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5% 香草醛硫酸溶液，在 105℃ 下加热至斑点显色清晰，在日光下检视，发现供试品溶液在对照药材溶液相应位置上显示相同颜色的斑点。

2.2.2.3 血竭 取血竭对照药材 0.1 g，加 10 mL 甲醇超声处理 30 min，过滤，滤液挥干，残渣加 1 mL 甲醇溶解，作为对照药材溶液。按照 2020 年版《中国药典》薄层色谱法（通则 0502），吸取“2.2.2.1”项下供试品溶液 5 μL、上述对照药材溶液 2 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇（19：1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5% 香草醛硫酸溶液，加热至斑点显色清晰，在日光下检

视，发现供试品溶液色谱中在对照药材相应位置上显示相同的红色斑点。

2.2.3 栀子苷含量测定 采用 HPLC 法。

2.2.3.1 对照品溶液制备 精密称取栀子苷对照品适量，甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 该成分的溶液，即得。

2.2.3.2 供试品溶液制备 精密称取本品 5.0 g，置于具塞锥形瓶中，加入 25 mL 甲醇，称定质量，回流提取 30 min，放冷，甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，即得。

2.2.3.3 色谱条件 Ultimate XB C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-水（B），梯度洗脱（0~16 min，8%~16% A，92%~84% B；16~22 min，16% A，84% B）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 35℃；检测波长 238 nm。精密吸取对照品、供试品溶液各 10 μL，在上述色谱条件下进样测定，结果见图 1。

2.2.3.4 线性关系考察 精密称取栀子苷对照品 6.62 mg，制成每 1 mL 含该成分 0.132 4 mg 的溶液，分别精密吸取 1、2、4、8、12、16、20 μL，在“2.2.3.3”项色谱条件下进样测定。以对照品进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程为 $Y = 1431.1X + 7.5468$ （ $r = 0.9999$ ），在 0.132 4~2.648 0 μg 范围内线性关系良好。

2.2.3.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL，在“2.2.3.3”项色谱条件下进样测定 6 次，测得栀子苷峰面积 RSD 为 1.32%，表明仪器精密度良好。

2.2.3.6 稳定性试验 精密称取本品 5.008 4 g，按“2.2.3.2”项下方法制备供试品溶液。精密吸取对照品、供试品溶液各 10 μL，室温下于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.2.3.3”项色谱条件下进样测定，测得 2 种溶液中栀子苷峰面积 RSD 分别为 0.074%、1.37%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.3.7 重复性试验 精密称取本品（批号 XQ20230301）6 份，按“2.2.3.2”项下方法制备供试品溶液，精密吸取 10 μL，在“2.2.3.3”项色谱条件下进样测定，测得栀子

[15] 段美华, 汪 静, 郭惠芳. 消炎止痛膏联合喜辽妥治疗小儿留置针静脉炎的临床效果观察[J]. 华夏医学, 2023, 36(5): 139-143.

[16] 邓国艳, 许芮豪, 呼格吉乐图, 等. 自拟行气活血消炎方治疗气滞血瘀型慢性前列腺炎的疗效观察[J]. 中国民族医药杂志, 2023, 29(6): 7-9.

[17] 贺琪珺, 王敏存, 陈定芳, 等. 中药复方配伍的整体定量药理学表征体系建立与实验验证[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(S1): 36-37.

[18] 左池靖, 刘 艳, 汪 杰, 等. 牛黄及其代用品的化学成分及质量控制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(18): 4874-4884.

[19] 李素丽, 玄 敏, 杨 涛, 等. 鹿红方颗粒制备工艺优化及其质量评价[J]. 中成药, 2023, 45(8): 2477-2483.

[20] 张 宇, 包旭宏, 王 峰, 等. 中药凝胶贴膏的历史渊源与制备工艺研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(6): 2769-2774.

[21] 罗家敏, 高 雯, 李 萍. 指纹图谱结合一测多评法的栀子质量控制方法研究[J]. 中草药, 2022, 53(11): 3480-3486.

HPLC 法同时测定桂枝-甘草药对中 8 种成分的含量

王 鹤, 雷紫文, 王智超, 冯李乐, 邹俊波, 史亚军, 栾 飞*
(陕西中医药大学药学院/陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定桂枝-甘草药对中原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸的含量。**方法** 分析采用 Inertsil ODS-3 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 20 ℃; 检测波长 254 nm。**结果** 8 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999$), 平均加样回收率 94.01%~98.62%, RSD 1.21%~4.37%。**结论** 该方法简便可靠, 重复性、稳定性良好, 可用于桂枝-甘草药对的质量控制与评价。

关键词: 桂枝; 甘草; 药对; 化学成分; 含量测定; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)08-2683-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.032

桂枝-甘草是经典的“辛甘化阳”药对, 源于《伤寒论》中的桂枝甘草汤, 两者配伍, 具有温补心阳功效^[1]。临床上通常以桂枝-甘草药对为基础方剂, 经随证加减用于心系疾病的治疗, 疗效确切^[2]。研究表明, 桂枝的主要活性成分肉桂醇、肉桂酸、肉桂醛等^[3-5]具有抗炎抑菌、抗肿瘤、扩张血管等活性^[6-7], 其中肉桂酸和肉桂醛通过抑制 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡, 进而减轻心肌细胞损伤^[8-10], 而甘草主要活性成分甘草苷、甘草素、甘草酸等具有抗氧化、抗真菌、抗癌等作用^[11-12], 其中甘草酸可增加 SOD、GSH 表达, 降低 LPO、IP 水平; 甘草素可通过抑制 Notch1/NF-κB、MAPK 通路减轻炎症, 进而发挥心肌保护作用^[13]。目前, 关于桂枝-甘草药对含量测定的研究较少^[14-15], 而且尚未见该药对配伍后的相关报道。本研究采用 HPLC 法同时测定桂枝-甘草药对中原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸的含量, 以期为该药对的质量控制和临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器 LC-2030C 3D Plus 高效液相色谱仪、Inertsil ODS-3 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) (日本岛津公司); GMD1002-T 电子天平 (南京伯尼塔科学仪器有限公司); BT25S 电子天平 (十万分之一, 北京赛多利斯仪器系统有限公司); KS-400VDE/2 超声波清洗机 (昆山洁力美超声仪器有限公司)。

1.2 药物 桂枝饮片 (编号 S1~S3, 批号 20230901、20230903、20230905)、炙甘草饮片 (编号 S4~S6, 批号 20230702、20230704、20230706) 各 3 批, 均购自陕西兴盛德药业有限责任公司, 经陕西中医药大学中药鉴定教研室颜永刚教授鉴定分别为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* (L.) D. Don 的干燥嫩枝、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎。

1.3 试剂 原儿茶酸、桂皮醛、甘草酸、甘草素、香豆素、肉桂醇对照品 (批号 CHB231010、CHB230811、

收稿日期: 2024-10-25
基金项目: 陕西省中医药管理局中医药科研项目 (SZY-KJCYC-2025-JC-043); 陕西省科技厅重点研发计划项目 (2024CY-JJQ-36); 陕西中医药大学科技创新人才体系建设计划项目 (2024-CXTD-03)
作者简介: 王 鹤 (2000—), 女, 硕士生, 从事中药新制剂、新剂型研究。E-mail: 2815801426@qq.com
* 通信作者: 栾 飞 (1989—), 男, 博士, 讲师, 从事中药新制剂、新剂型研究。E-mail: luanfeiren@163.com