

[科研报道]

基于 HPLC 指纹图谱和含量测定控制火炭母质量

柳贤福^{1,2}, 陆万冰¹, 傅鹏^{1,3}, 周洁儿², 张森^{1,3}, 罗雯雯¹, 陈俊², 覃日宏^{2*}, 黄颖^{2*}

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530200; 2. 广西中医药大学赛恩斯新医药学院, 广西南宁 530200; 3. 广西中医药大学广西壮瑶药重点实验室, 广西南宁 530200)

摘要: 目的 对火炭母质量进行控制。方法 建立 HPLC 指纹图谱, 测定异槲皮苷、鞣花素、广寄生苷、槲皮苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素的含量。分析采用 Agilent 5 TC-C₁₈₍₂₎ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 检测波长 360 nm。结果 10 批样品指纹图谱中有 18 个共有峰, 相似度均大于 0.9。9 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999 0$), 平均加样回收率 97.91%~100.5%, RSD 0.67%~1.5%。结论 HPLC 指纹图谱结合含量测定准确度良好, 稳定可靠, 可用于火炭母质量评价。

关键词: 火炭母; 质量控制; HPLC 指纹图谱; 含量测定

中图分类号: R283

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)08-2676-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.030

火炭母为蓼科植物火炭母 *Persicaria chinensis* L. 的干燥全草, 其味辛、苦, 性凉, 归肝、脾经, 具有清热除湿、凉血解毒、利肝明目、舒经活血功效, 主治泄泻、痢疾、肺热咳嗽、咽喉肿痛、肝炎、湿疹、中耳炎等, 主要分布于福建、广西、广东等地^[1], 易生长于潮湿、阴暗的环境, 山谷、水边多见^[2], 目前收录于《广西壮族自治区瑶药材质量标准·第一卷》^[3]和《广西壮族自治区壮药质量标准·第一卷》^[4], 在壮族、瑶族地区应用广泛, 具有诱导癌细胞凋亡^[5]、抑菌^[6-8]、抗炎^[9-10]等作用, 开发价值较大^[11]。研究表明, 火炭母含有黄酮类^[12-13]、苷类^[14-15]、酚酸类^[14-15]、挥发油^[16]等成分, 但目前尚无关于该药材总体质量控制的报道。

中药药效发挥往往是多成分共同作用而产生的, 故进行多指标含量测定更符合其质量控制要求^[17-19]。因此, 本实验建立火炭母 HPLC 指纹图谱, 并测定异槲皮苷、鞣花素、广寄生苷、槲皮苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素的含量, 以期更全面客观地评价该药材质量。

1 材料

1.1 仪器 安捷伦 1200 型高效液相色谱仪 [安捷伦科技(中国)有限公司]; KQ3200DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Simplicity-185 型超纯水仪 (美国 Millipore 公司); XS225DU 型电子分析天平 [十万分之

一, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.2 试剂与药物 异槲皮苷 (批号 4972, 纯度 ≥ 99.8%)、鞣花素 (批号 4287, 纯度 ≥ 99.8%)、广寄生苷 (批号 4408, 纯度 ≥ 99.0%)、槲皮苷 (批号 4873, 纯度 ≥ 98.5%)、槲皮素 (批号 3967, 纯度 ≥ 99.5%)、木犀草素 (批号 4327, 纯度 ≥ 99.5%)、芹菜素 (批号 4532, 纯度 ≥ 98.5%)、山柰酚 (批号 3776, 纯度 ≥ 99.0%)、异鼠李素 (批号 3766, 纯度 ≥ 99.7%) 对照品均购于上海诗丹德标准技术服务有限公司。火炭母共 10 批, 经广西中医药大学赛恩斯新医药学院实验中心专家鉴定为正品, 具体见表 1, 粉碎, 过 40 目筛。甲醇、乙腈均为色谱纯; 其余试剂均为分析纯; 水为超纯水。

表 1 火炭母信息

编号	产地	采收时间	编号	产地	采收时间
S1	广西贺州	2023年9月	S6	广西北海	2023年9月
S2	广西梧州	2023年9月	S7	广西百色	2023年9月
S3	福建龙岩	2023年8月	S8	广西防城港	2023年9月
S4	广东湛江	2023年8月	S9	广西南宁	2023年9月
S5	江西萍乡	2023年9月	S10	广西河池	2023年9月

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备 取药材粉末约 1 g, 精密称定, 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 20 mL 甲醇, 称定质量, 超声 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 处理 40 min, 取出,

收稿日期: 2025-03-04

基金项目: 广西壮瑶药重点实验室 (壮瑶药协同创新中心) 开放课题 (GXZYKF2023-06); 大学生创新训练计划项目 (202413643016)

作者简介: 柳贤福 (1984—), 男, 硕士, 教授, 硕士生导师, 从事中药、民族药成分分析及其质量标准研究。E-mail: 176336350@qq.com

* 通信作者: 覃日宏 (1986—), 男, 硕士, 副教授, 从事中药、民族药研究, E-mail: 306176171@qq.com

黄颖 (1984—), 女, 硕士, 副教授, 从事中药、民族药质量控制研究。E-mail: 77869160@qq.com

放冷，甲醇补足减失的质量，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.2 对照品溶液制备 精密称取异槲皮苷、鞣花素、广寄生苷、槲皮苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素对照品适量，置于25 mL量瓶中，甲醇制成每1 mL分别含0.348、0.865、0.442、0.489、0.623、0.486、0.366、0.482、0.524 mg上述成分的溶液，即得。

2.3 色谱条件 Agilent 5 TC-C₁₈₍₂₎ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇 (A) -0.1% 磷酸 (A), 梯度洗脱 (0~20 min, 25%~40% B; 20~50 min, 40% B; 50~60 min, 40%~55% B; 60~80 min, 55% B); 体积流量1 mL/min, 柱温25 ℃; 检测波长360 nm; 进样量10 μL。

2.4 HPLC 指纹图谱建立

2.4.1 系统适用性考察 取药材 (S1) 适量，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定6次，考察精密性；取同一份供试品溶液，于0、4、10、16、24 h在“2.3”项色谱条件下进样测定，考察稳定性；按“2.1”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，考察重复性，以11号鞣花素为参照 (S)。结果，各共有峰相对保留时间、相对峰面积RSD分别为精密性试验0.17%~1.3%、0.38%~2.0%，稳定性试验0.28%~1.8%、0.77%~2.3%，重复性试验0.36%~1.9%、1.1%~2.0%，表明仪器精密性、溶液24 h内稳定性、方法重复性良好。

2.4.2 图谱生成 取10批药材，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，将相关数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件” (2012年版)，以S1为参照，时间窗宽度为0.10 min，中位数法生成图谱 (图1)，共发现18个共有峰，与对照品 (图2) 比对后指认出9种成分，分别为10号峰异槲皮苷、

11号峰鞣花素、12号峰广寄生苷、13号峰槲皮苷、14号峰槲皮素、15号峰木犀草素、16号峰芹菜素、17号峰山柰酚、18号峰异鼠李素，以11号峰为参照 (S)，测得各共有峰相对峰面积RSD为22.8%~57.7%，表明不同批次药材中各成分含量存在一定的差异；相对保留时间RSD为0.69%~1.9%，表明其共有峰出峰时间较稳定。再进行相似度分析，结果见表2，可知均大于0.9，符合相关要求。

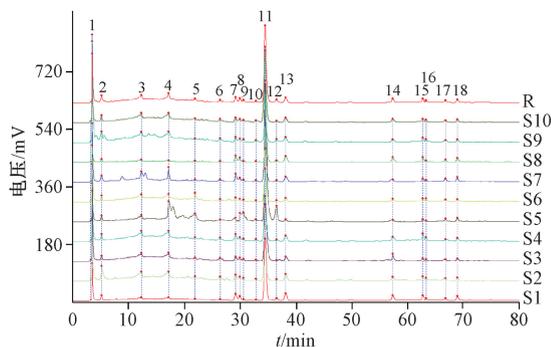
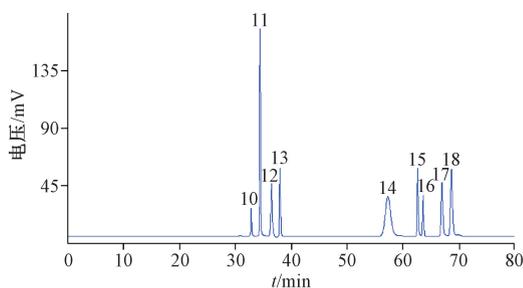


图1 10批火炭母 HPLC 指纹图谱



- 10. 异槲皮苷 11. 鞣花素 12. 广寄生苷 13. 槲皮苷
- 14. 槲皮素 15. 木犀草素 16. 芹菜素 17. 山柰酚
- 18. 异鼠李素

图2 对照品 HPLC 色谱图

表2 10批火炭母相似度测定结果

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1	0.985	0.975	0.981	0.964	0.962	0.978	0.996	0.910	0.980	0.987
S2	0.985	1	0.982	0.987	0.973	0.971	0.991	0.978	0.939	0.990	0.994
S3	0.975	0.982	1	0.997	0.954	0.994	0.983	0.955	0.966	0.996	0.994
S4	0.981	0.987	0.997	1	0.963	0.990	0.987	0.965	0.957	0.998	0.997
S5	0.964	0.973	0.954	0.963	1	0.947	0.965	0.963	0.897	0.968	0.975
S6	0.962	0.971	0.994	0.990	0.947	1	0.973	0.938	0.970	0.990	0.987
S7	0.978	0.991	0.983	0.987	0.965	0.973	1	0.968	0.948	0.988	0.993
S8	0.996	0.978	0.955	0.965	0.963	0.938	0.968	1	0.877	0.965	0.974
S9	0.910	0.939	0.966	0.957	0.897	0.970	0.948	0.877	1	0.958	0.956
S10	0.980	0.990	0.996	0.998	0.968	0.990	0.988	0.965	0.958	1	0.998
R	0.987	0.994	0.994	0.997	0.975	0.987	0.993	0.974	0.956	0.998	1

2.5 含量测定

2.5.1 线性关系考察 将“2.2”项下对照品溶液用甲醇按一定比例稀释成不同质量浓度，在“2.3”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，结果见表3，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.5.2 系统适用性考察 取药材 (S1) 适量，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定6次，考察精密性；取同一份供试品溶液，于0、4、10、16、24 h在“2.3”项色谱条件下进样测定，考察稳定性；按“2.1”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，考察重复性。结果，异槲皮苷、

表3 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
异槲皮苷	Y=1 347.1X+0.218	0.999 6	0.069 6~0.348
鞣花素	Y=998.72X+3.926	0.999 5	0.173~0.865
广寄生苷	Y=1 259.3X-4.2	0.999 1	0.088 4~0.442
槲皮苷	Y=1 240.3X+5.898	0.999 7	0.097 8~0.489
槲皮素	Y=1 198.8X+1.304	0.999 2	0.124 6~0.623
木犀草素	Y=1 155.3X+1.26	0.999 4	0.097 2~0.486
芹菜素	Y=1 300.5X+1.204	0.999 2	0.073 2~0.366
山柰酚	Y=1 170.4X+0.45	0.999 2	0.096 4~0.482
异鼠李素	Y=1 317.3X-0.65	0.999 8	0.104 8~0.524

鞣花素、广寄生苷、槲皮苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素精密密度试验峰面积 RSD 分别为 0.44%、0.67%、0.98%、0.24%、0.63%、0.78%、0.55%、0.82%、0.66%，稳定性试验 RSD 分别为 1.3%、1.8%、1.1%、0.97%、1.5%、1.6%、1.4%、1.3%、1.7%，重复性试验

RSD 分别为 1.8%、1.4%、1.5%、1.5%、1.7%、0.41%、1.6%、2.0%、1.3%，表明仪器精密密度、溶液 24 h 内稳定性、方法重复性良好。

2.5.3 加样回收率试验 取各成分含量已知的药材 (S1) 约 0.5 g，共 9 份，精密称定，置于具塞锥形瓶中，分别按 50%、100%、150% 水平加入对照品各 3 份，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，异槲皮苷、鞣花素、广寄生苷、槲皮苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素平均加样回收率分别为 99.66%、100.2%、97.91%、98.76%、100.2%、100.3%、98.65%、100.5%、99.68%，RSD 分别为 1.1%、1.5%、1.1%、0.67%、1.3%、1.3%、0.78%、0.95%、1.3%。

2.5.4 含量测定 取 10 批药材，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，外标法计算含量，结果见表 4。

表4 各成分含量测定结果 (mg/g)

编号	异槲皮苷	鞣花素	广寄生苷	槲皮苷	槲皮素	木犀草素	芹菜素	山柰酚	异鼠李素
S1	2.657	8.971	2.312	3.242	4.101	4.861	2.815	3.420	4.549
S2	2.043	5.779	1.974	2.557	3.679	4.065	1.987	2.228	3.158
S3	2.776	8.663	2.065	3.668	4.558	5.268	2.668	3.875	4.884
S4	1.880	4.896	1.887	2.789	3.664	3.775	3.679	2.678	3.475
S5	3.337	9.116	2.865	3.670	5.173	6.588	3.356	4.098	6.105
S6	2.085	7.078	2.564	2.938	3.666	4.297	2.664	2.864	3.655
S7	3.491	9.227	2.670	3.664	4.425	6.864	2.892	4.563	5.543
S8	2.339	8.211	2.370	3.014	4.227	4.265	2.067	3.221	3.847
S9	1.649	6.886	1.931	2.894	3.453	3.669	2.544	3.006	4.252
S10	2.662	8.383	2.478	3.167	4.112	4.552	3.047	3.789	3.588

3 讨论与结论

预实验前期分别考察了乙腈、甲醇、水、0.1% 磷酸不同组合的流动相，发现以甲醇-0.1% 磷酸洗脱时各成分色谱峰峰形对称，基线平稳，并且由于所测成分极性差异较大，故采用梯度洗脱。为了获得更全面的成分信息，本实验设置较低比例的有机相梯度洗脱 80 min，并且 80 min 后无色谱峰出现。

指纹图谱利用现代色谱技术来系统分离和分析化学成分，用于评价中药质量时可更全面地表征其整体化学轮廓^[20]。本实验建立 10 批火炭母 HPLC 指纹图谱，发现 18 个共有峰，指出 9 种成分，分别为异槲皮苷、鞣花素、广寄生苷、槲皮苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素，并且均为药材主要化合物，故选择它们作为含量测定指标，并且其非共有峰峰面积均小于 10%，符合中药指纹图谱要求；相似度均大于 0.9，表明不同产地药材品质较稳定。另外，不同产地药材中各成分含量存在差异，可能是因为土壤、气候等因素对药材生长和成分积累有一定的影响。

综上所述，本实验建立火炭母 HPLC 指纹图谱，并测定异槲皮苷、鞣花素、广寄生苷、槲皮苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素的含量，该方法简便可行，重复性好，准确度高，可为该药材质量控制提供参考

依据。

参考文献:

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第 2 册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 648.

[2] 韦安达, 朱 华, 谢凤凤, 等. 民族药材火炭母的研究进展[J]. 中国现代中药, 2020, 22(9): 1580-1586.

[3] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区瑶药材质量标准 (第 1 卷) [S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2014: 12.

[4] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准 (第 1 卷) [S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008: 10.

[5] 罗德平, 肖 威, 李慧娟, 等. 火炭母提取物激活 NF-κB 抑制 AMPK 通路诱导人卵巢癌 SK-OV-3 细胞凋亡研究[J]. 社区医学杂志, 2024, 22(16): 551-556.

[6] 张易安, 郭琰娜, 刘 妍, 等. 火炭母通过调控 TLR4-TBK1 信号通路改善鼠伤寒沙门菌感染小鼠空肠的炎症反应[J]. 中国兽医杂志, 2023, 59(11): 132-139.

[7] 宋姗姗, 杨艾华, 王小敏, 等. 火炭母水提物对金黄色葡萄球菌的抑菌机制研究[J]. 食品科技, 2022, 47(4): 255-260.

[8] 沈幸玲, 丁康宁, 王幽丛, 等. 火炭母缓解鼠伤寒沙门菌

- 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