中图分类号：R917；R927　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2025)14－0067－06
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.14.015

藤艾散中7味药材显微鉴别及2种成分含量测定*

谭　谦[1]，周　琪[1]，潘月晴[2]，欧阳波[1]，贺煜东[1,2△]

（1. 湖南省妇幼保健院，湖南 长沙　410028；　2. 南方医科大学药学院，广东 广州　510515）

摘要：目的　建立藤艾散的质量标准。**方法**　采用显微鉴别法对制剂中7种药材进行显微鉴别；采用高效液相色谱法测定制剂中红景天苷和绿原酸的含量，色谱柱为Kromasil 100－5 C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为pH 2.0磷酸水溶液－乙腈（梯度洗脱），流速为1.0 mL/min，检测波长/参比波长为275 nm/300 nm（红景天苷）、330 nm/400 nm（绿原酸），柱温为30 ℃，进样量为10 μL。**结果**　槲寄生、红花、乳香、血竭、艾叶、大血藤、没药显微特征典型；红景天苷和绿原酸质量浓度分别在2.587～25.872 μg/mL、14.910～149.100 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好（R^2=0.999 9，n=6）；精密度、稳定性、重复性试验结果的*RSD*均小于2.0%（n=6），平均加样回收率分别为100.48%和100.21%，*RSD*分别为1.48%和0.83%（n=9）。3批样品中红景天苷和绿原酸的含量分别为0.074%～0.077%、0.337%～0.365%（n=3）。**结论**　该研究中所建方法重复性好、专属性强，可用于藤艾散的质量控制。

关键词：藤艾散；显微鉴别；高效液相色谱法；质量标准

Microscopic Identification of Seven Medicinal Herbs and Content Determination of Two Components in Tengai Powders

TAN Qian[1], ZHOU Qi[1], PAN Yueqing[2], OUYANG Bo[1], HE Yudong[1,2]

(1. Hunan Provincial Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha, Hunan, China　410028;　2. School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China　510515)

Abstract: Objective　To establish a quality standard for the Tengai Powders. **Methods**　The microscopic identification was performed on 7 medicinal materials. The salidroside and chlorogenic acid in the preparation was analyzed quantitatively by the high－performance liquid chromatography (HPLC). **Methods**　the chromatography column was the Kromasil 100－5 C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was pH 2.0 phosphoric acid aqueous solution－ acetonitrile (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength/reference wavelength was 275 nm/300 nm (salidroside), 330 nm/400 nm (chlorogenic acid), the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results**　The microscopic features of Visci herba, Carthami flos, Olibanum, Draconis sanguis, Artemisiae argyi folium, Sargentodoxae caulis and Myrrha were obvious. The linear range of salidroside and chlorogenic acid were 2.587－25.872 μg/mL, 14.910－149.100 μg/mL (R^2=0.999 9, n=6); the *RSD*s of precision, stability and repeatability tests were all less than 2.0%; the average recovery rate were 100.48% and 100.21%, with *RSD* of 1.48% and 0.83% (n=9); The contents of salidroside and chlorogenic acid in the three batches of samples were in the ranges of 0.074%－0.077% and 0.337%－0.365% (n=3) respectively. **Conclusion**　The established methods demonstrates good reproducibility and strong specificity, which can be used for the quality control of Tengai Powders.

Key words: Tengai Powders; microscopic identification; high－performance liquid chromatography; quality standard

藤艾散为湖南省妇幼保健院开发的中药复方外用制剂，由槲寄生、红花、乳香、血竭、艾叶、大血藤、没药等17味药材组方，具有消炎、止痛、活血化瘀功效，临床用于气滞血瘀、湿热蕴结型慢性盆腔炎的治疗。大血藤为君药，现代药理研究显示可抑制大肠埃希菌、铜绿假单胞菌[1]，且能抗炎止血[2]、抗氧化[3]。该方为首次开发成制剂，暂未建立质量标准。为此，本研究中对制剂中的7味药材进行显微鉴别，确定其专属性显微特征；同时参考2020年版《中国药典（一部）》[4]收载的大血藤质量标准，建立了测定藤艾散中的红景天苷和绿原酸含量的高效液相色谱法，以进一步控制制剂质量。现报道如下。

1　仪器与试药

1.1　仪器

XC860S型分级超细连续式水冷粉碎机（温州顶厉医疗器械有限公司）；CX41型显微镜（日本Olympus公司）；1260型高效液相色谱仪，包括二极管阵列检测器（美国Agilent公司）；KQ－500E型超声清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；YP502N型电子天平（上海天美天

*基金项目：湖南省“十四五”第一批中医药学科带头人培养项目［湘中医药〔2022〕4号］；湖南省妇幼保健院锐新培育计划项目［2023RX20］。

第一作者：谭谦，男，大学本科，主管药师，研究方向为医院制剂制备工艺及质量评价，（电子信箱）469626769@qq.com。

△通信作者：贺煜东，男，硕士研究生，工程师，研究方向为药物分析学，（电子信箱）ydhe93@163.com。

平仪器有限公司，精度为0.01 g），S210－K型pH计、XSR205DU型电子天平（精度为0.01 mg），均购自瑞士Mettler Toledo公司。

1.2 试药

藤艾散（湖南省妇幼保健院制剂室，批号分别为20230501，20230502，20230503）；红景天苷对照品（北京伊诺凯科技有限公司，批号为KYIIR003，含量98.0%）；绿原酸对照品（批号为200218－170427，含量96.3%），槲寄生对照药材（批号为121038－201906），红花对照药材（批号为120907－201713），乳香对照药材（批号为120970－202106），血竭对照药材（批号为120906－201611），艾叶对照药材（批号为121345－201804），大血藤对照药材（批号为121353－202105），没药对照药材（批号为121250－201806），均购自中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈均为色谱纯，其余试剂均为医药级或分析纯，水为超纯水。饮片槲寄生（批号为20220915），红花（批号为20220728），乳香（批号为20220311），血竭（批号为20220729），艾叶（批号为2020040804），大血藤（批号为20221111），没药（批号为2021081704），均购自湖南然润堂中药有限公司。

2 方法与结果

2.1 显微鉴别[4－5]

2.1.1 制片

槲寄生、红花、大血藤：取单味药或对照药材粉末（过2号筛）适量，置载玻片上，滴加2～3滴水合氯醛，于酒精灯火焰上方约3 cm处加热透化，同时搅拌使微沸。重复滴加水合氯醛至溶液均匀透明，滴加2～3滴稀甘油，盖上盖玻片，拭去多余液体，即得槲寄生、红花、大血藤水合氯醛透化片。

乳香：取单味药或对照药材粉末（过2号筛）适量，置载玻片上，滴加2～3滴90%乙醇和2～3滴甘油，搅拌均匀，盖上盖玻片，拭去多余液体，即得乳香90%乙醇稀甘油冷装片。

没药、血竭、艾叶：取没药、血竭单味药或对照药材粉末（过2号筛）适量，取艾叶的单味药或对照药材适量，于50 ℃下干燥24 h，粉碎2次，取粉末（过2号筛），适量，置载玻片上，滴加2～3滴稀甘油，搅拌均匀，盖上盖玻片，拭去多余液体，即得没药、血竭、艾叶稀甘油冷装片。

阴性对照：按上述制片方法，分别制备不含目标单味药的藤艾散阴性对照片。

样品：取适量藤艾散（批号为20230501），分别采用水合氯醛透化片、90%乙醇稀甘油冷装片、稀甘油冷装片制备3种不同样品片。

2.1.2 显微结果

取上述冷装片，置显微镜下观察，通过比较单味药、对照药材、阴性对照、样品的显微结构特征，结合实验中检出粉末特征的难易程度，确定了藤艾散的专属性强、检出率较高的粉末显微特征。详见表1、图1。

表1 藤艾散专属显微特征表

Tab. 1 Microscopic characteristics of Tengai powder

显微特征归属	专属性显微特征
槲寄生	细胞类长方形，可见气孔[6]
红花	花粉粒类圆形、椭圆形或橄榄形，具3个萌发孔，外壁有齿状突起[7-8]
大血藤	石细胞细胞腔小，含棕红色物，次主壁较厚，壁上有纹孔道，常联合成分枝纹孔道[9]
乳香	大小不一，形状不规则，经90%乙醇溶解后微透明，边缘不齐，表面纹理似雪花[10]
没药	形状不一，边缘不齐，大小不等，半透明，呈黄色、褐色、黑色等。表面可见不规则形裂纹或扭曲短裂纹[10]
血竭	呈橙红色，大小不等，形状不规则，微透明，略成晶形，边缘不齐，棱角不明显。表面可见不规则形裂纹或扭曲短裂纹[11]
艾叶	可观察到细长棒状细胞，为非腺毛[12]

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱：Kromasil 100－5－C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：pH 2.0磷酸水溶液（A）－乙腈（B），梯度洗脱（0～40 min时94%A→91%A）；流速：1.0 mL/min；检测波长/参比波长：275 nm/300 nm（红景天苷），330 nm/400 nm（绿原酸）；柱温：30 ℃；进样量：10 μL。

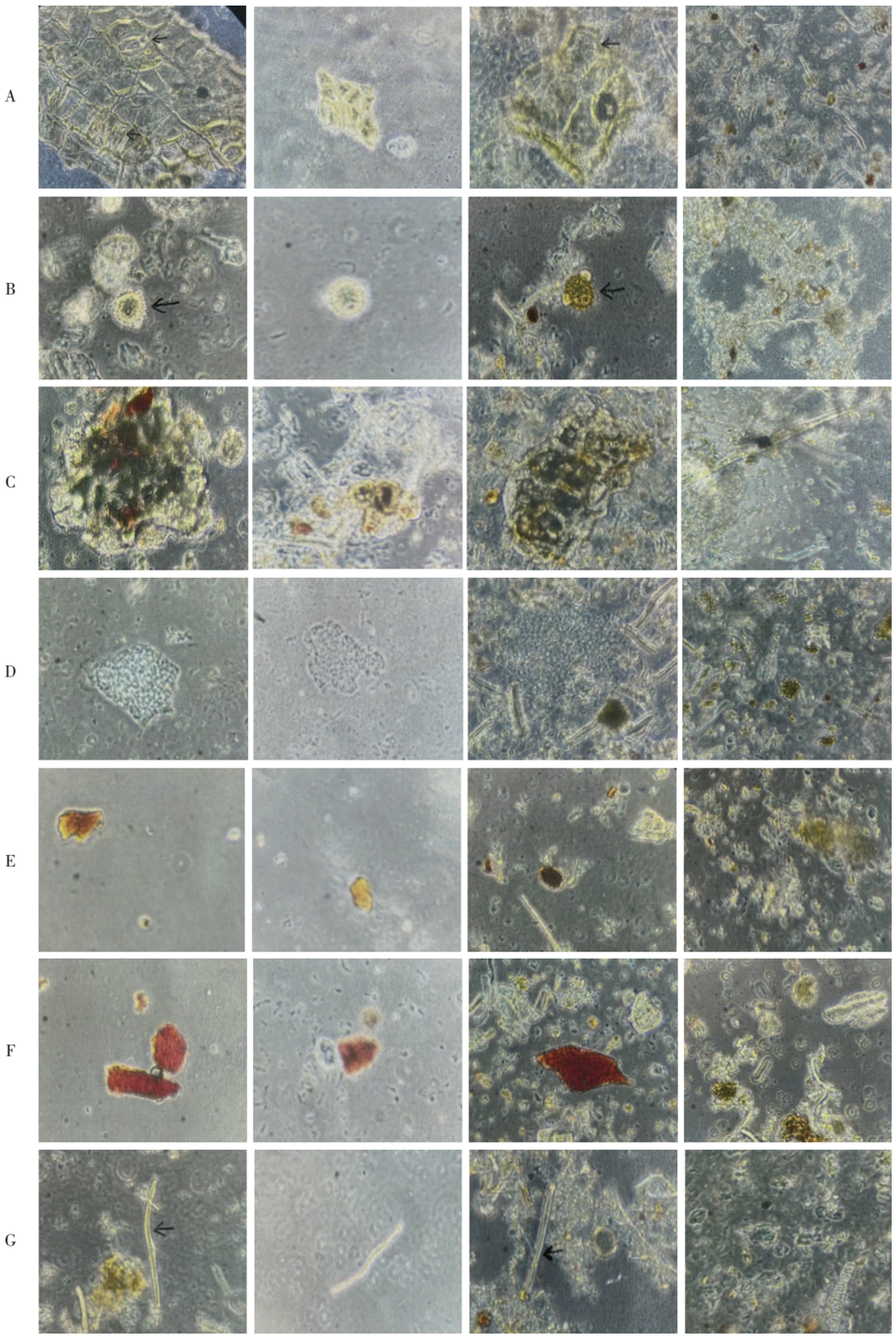
2.2.2 溶液制备

混合对照品溶液：称取红景天苷对照品17.60 mg，精密称定，置10 mL容量瓶中，用稀释剂（甲醇、水各500 mL，混匀，即得；下同）溶解并定容，摇匀，制成每1 mL含红景天苷1 724.80 μg的对照品溶液。称取绿原酸对照品103.22 mg，精密称定，置50 mL容量瓶中，用稀释剂溶解并定容，摇匀，制成每1 mL含绿原酸1 988.02 μg的对照品溶液。分别精密移取5，25 mL，置同一50 mL容量瓶中，加稀释剂定容，制成每1 mL含红景天苷和绿原酸分别为172.48 μg、994.01 μg的混合对照品溶液。

供试品溶液：称取藤艾散约1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加稀释剂40 mL，称定质量，超声（功率500 W、频率40 kHz）40 min，放冷，再次称定质量，并用稀释剂补足减失的质量，摇匀，溶液经0.45 μm滤膜滤过，取续滤液，即得。

阴性对照品溶液：按藤艾散处方和工艺制备缺大血藤的阴性样品。并按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液，即得。

空白对照品溶液：以稀释剂为空白对照品溶液。



A – F. 槲寄生、红花、大血藤、乳香、没药、血竭(× 400)　G. 艾叶(× 100)

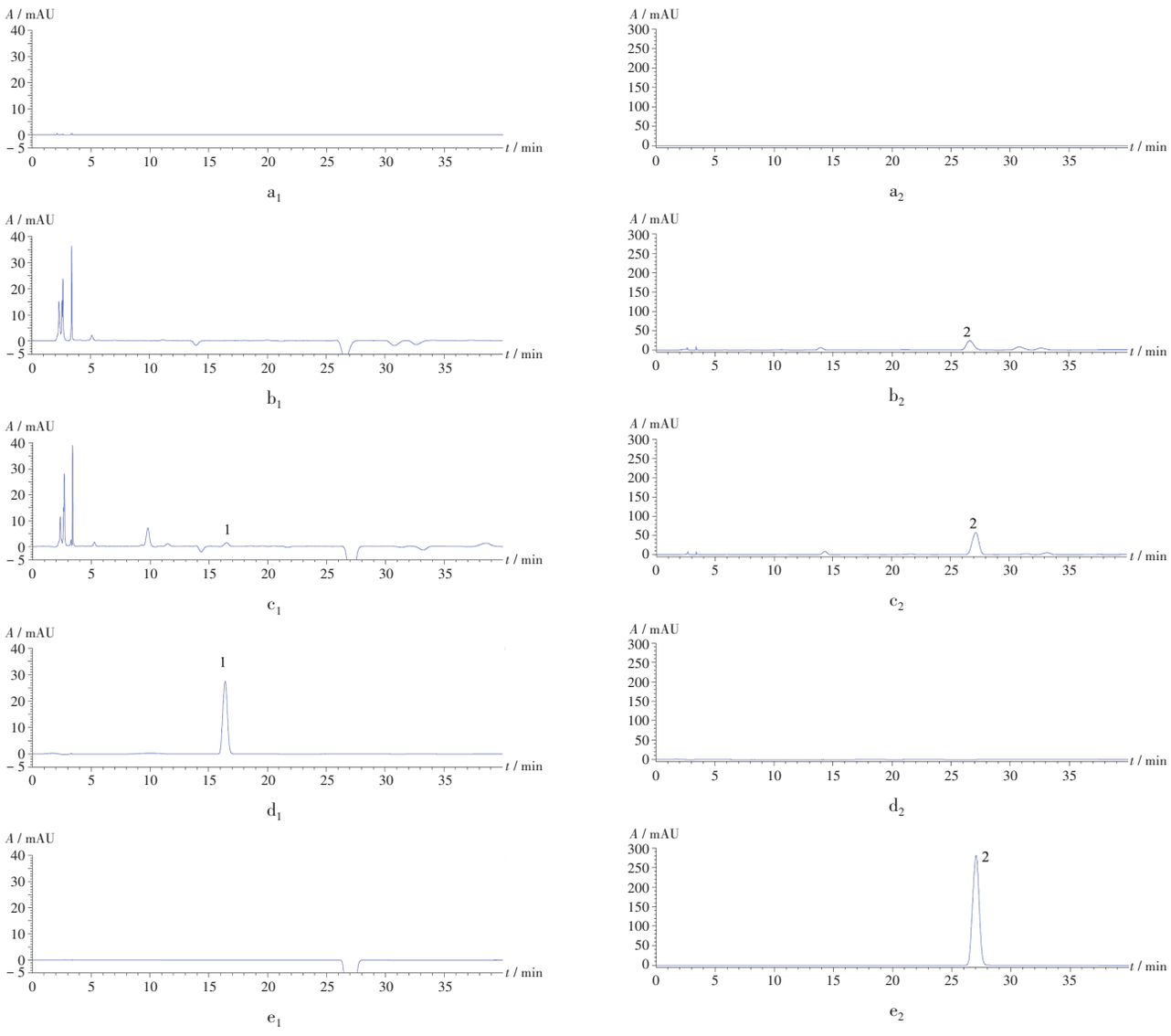
a. 单味药　b. 对照药材　c. 样品　d. 阴性对照品

图 1　显微特征图

A – F. Visci herba, Carthami flos, Sargentodoxae caulis, Olibanum, Myrrha, Draconis sanguis(× 400)　G. Artemisiae argyi folium(× 100)

a. Single medicinal herb　b. Reference medicinal herb　c. Samples　d. Negative reference

Fig. 1　Microscopic feature map



1. 红景天苷　2. 绿原酸

a_1, a_2. 空白对照品溶液　b_1, b_2. 阴性对照品溶液　c_1, c_2. 供试品溶液　d_1, d_2. 红景天苷对照品溶液　e_1, e_2. 绿原酸对照品溶液

A. λ = 275 nm　B. λ = 330 nm

图 2　高效液相色谱图

1. Salidroside　2. Chlorogenic acid

a_1, a_2. Blank reference solution　b_1, b_2. Negative reference solution　c_1, c_2. Test solution　d_1, d_2. Salidroside reference solution　e_1, e_2. Chlorogenic acid reference solution

A. λ = 275 nm　B. λ = 330 nm

Fig. 2　HPLC chromatograms

2.2.3　*方法学考察*

专属性试验：取 2.2.2 项下空白对照品溶液、阴性对照品溶液、供试品溶液及 2 种单一对照品溶液各适量，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果空白对照及阴性对照在与红景天苷及绿原酸对照品保留时间相同处无干扰峰，表明专属性良好。详见图 2。

线性关系考察：精密移取 2.2.2 项下红景天苷对照品溶液 0.75 mL，绿原酸对照品溶液 3.75 mL，置同一 50 mL 容量瓶中，用稀释剂定容，摇匀。取适量，用稀释剂制成红景天苷质量浓度分别为 2.587，6.468，12.936，15.523，19.404，25.872 μg / mL，绿原酸质量浓度分别为 14.910，37.275，74.550，89.460，111.825，149.100 μg / mL 的系列混合对照品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以峰面积（Y）为纵坐标、待测成分质量浓度（X，μg / mL）为横坐标进行线性回归，得回归方程，红景天苷为 $Y_1 = 2.133X_1 - 0.0491$

(R^2 = 0.999 9)，绿原酸 Y_2 = 26.924X_2 − 11.353(R^2 = 0.999 9)。结果表明，红景天苷及绿原酸质量浓度分别在 2.587 ~ 25.872 μg/mL、14.910 ~ 149.100 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验：取 2.2.2 项下供试品溶液适量，按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果红景天苷和绿原酸峰面积的 *RSD* 分别为 0.44% 及 0.18%(n = 6)，表明方法精密度良好。

稳定性试验：取 2.2.2 项下供试品溶液(批号为 20230501)适量，分别于室温放置 0，2，6，12，18，24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果红景天苷及绿原酸峰面积的 *RSD* 分别为 1.05% 及 0.39%(n = 6)，表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验：取供试品溶液(批号为 20230501)适量，共 6 份，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积并计算含量。结果红景天苷及绿原酸含量分别为 0.074% 及 0.337%，*RSD* 分别为 0.33% 及 0.27%(n = 6)，表明方法重复性良好。

加样回收试验：取已知含量样品(批号为 20230501)约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，共 9 份，分别加入 2.2.2 项下混合对照品溶液 1，2，3 mL，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积并计算加样回收率。结果见表 2。

2.2.4 样品含量测定

取 3 批样品各适量，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，平行 3 份，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，计算红景天苷和绿原酸的含量。结果见表 3。

表 2 加样回收试验结果(n = 9)

Tab. 2 Results of the recovery test (n = 9)

待测成分	取样量 (g)	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	*RSD* (%)
红景天苷	0.508 8	378.46	172.48	554.53	102.08		
	0.509 1	378.68	172.48	556.45	103.07		
	0.509 9	379.27	172.48	552.61	100.49		
	0.507 4	377.42	344.96	719.67	99.21		
	0.502 0	373.40	344.96	721.64	100.95	100.48	1.48
	0.504 1	374.96	344.96	723.61	101.07		
	0.501 1	372.73	517.44	881.96	98.41		
	0.502 3	373.62	517.44	890.02	99.80		
	0.503 5	374.51	517.44	888.00	99.24		
绿原酸	0.508 8	1 714.47	994.00	2 714.79	100.64		
	0.509 1	1 715.48	994.00	2 709.76	100.03		
	0.509 9	1 718.17	994.00	2 709.15	99.70		
	0.507 4	1 709.75	1 988.00	3 691.23	99.67		
	0.502 0	1 691.55	1 988.00	3 707.14	101.39	100.21	0.83
	0.504 1	1 698.63	1 988.00	3 716.19	101.49		
	0.501 1	1 688.52	2 982.00	4 681.15	100.36		
	0.502 3	1 692.56	2 982.00	4 661.51	99.56		
	0.503 5	1 696.61	2 982.00	4 650.96	99.07		

表 3 样品含量测定结果(%，n = 3)

Tab. 3 Results of content determination of samples (%，n = 3)

待测成分	20230501	20230502	20230503	$\bar{X}$
红景天苷	0.074	0.074	0.077	0.075
绿原酸	0.337	0.339	0.365	0.347

3 讨论

大血藤为藤艾散中的君药，其主要成分红景天苷[13-14]、绿原酸[15-16]具有多种药理作用，且此 2 种成分均收录于 2020 年版《中国药典(一部)》大血藤的质量标准，故均定为藤艾散含量测定的质量标志成分。

预试验中，首先于 0.1% 甲酸溶液 − 乙腈流动相体系下，对比了 Zorbax Extend − C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm，5 μm)、Kromasil 100 − 5 − C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm，5 μm)等色谱柱，发现后者分离效果更佳，红景天苷和绿原酸与相邻峰的分离度均大于 1.5，但前者的保留时间不稳定，推测原因为 0.1% 甲酸水溶液 pH 约为 2.5，于甲酸的缓冲临界点。之后将流动相改为 pH 2.0 磷酸水溶液 − 乙腈，红景天苷、绿原酸与相邻峰的分离度均大于 1.5，保留时间稳定，故确定该色谱条件为最终色谱条件。预试验中超声提取时间分别考察了 40，60，90 min，含量结果无明显差异，平行性良好，为提高样品溶液的制备效率，选择 40 min 作为最终的超声提取时间最终选择 40 min；为使红景天苷和绿原酸灵敏度符合要求，且波长耐用性良好，将其检测波长分别定为 2 种成分的最大特征吸收波长 275 nm(红景天苷)、330 nm(绿原酸)。

中药复方成分复杂，其降解产物是否会干扰目标化合物的测定更是难以预测，设定参比波长可一定程度上消除样品中其他成分对目标成分检测的干扰，但若干扰成分和目标成分的紫外吸收波长段重合时，则不适合使用参比波长消除干扰。本研究中为减少目标成分被干扰风险、增加分析方法的耐用性，将参比波长定为目标化合物无紫外吸收的波长边缘，分别为 300 nm(红景天苷)、400 nm(绿原酸)。

综上所述，本研究中通过对比单味药、对照药材、阴性对照、藤艾散的显微特征，确定了藤艾散中 7 味药材的专属性粉末显微特征。同时建立了稳定性好、专属性强的红景天苷、绿原酸的含量测定方法，能部分评价和控制藤艾散的质量。

参考文献

[1] 尹子瞳，徐浩南，杨陇珠，等. 大血藤化学成分，药理作用及临床应用研究进展[J]. 陕西中医药大学报，2024，48(3)：148 − 155.

[2] 廖 娜，黄光伟，唐红艳，等. 大血藤醇提物抗炎镇痛和止