鸡内金当归褥疮软膏的制备工艺优化及质量标准研究Δ

庞晓军[1,2*]，谢　颜[2]，陈　杏[2]（1.钦州市第二人民医院临床药学科，广西 钦州　535000；2.广西医科大学药学院，南宁　530021）

中图分类号　R917；R283.6　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）04-0447-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.04.10

摘　要　目的　优化鸡内金当归褥疮软膏的制备工艺，并建立其质量标准。**方法**　以油相、乳化剂用量和乳化温度为指标，采用响应面法优化鸡内金当归褥疮软膏的制备工艺。采用薄层色谱法鉴别该软膏中的鸡内金和当归，观察该软膏的性状，按照《中国药典》方法对该软膏进行粒度和装量检查，采用高效液相色谱法测定该软膏中尿苷、阿魏酸和藁本内酯的含量。**结果**　鸡内金当归褥疮软膏的最优制备工艺为：油相白凡士林4.0 g、液体石蜡7.0 g、羊毛脂5.0 g，乳化剂三乙醇胺0.44 g，乳化温度78 ℃。按最优工艺制备所得鸡内金当归褥疮软膏为米白色膏状，其粒度和装量检查均符合《中国药典》要求。鸡内金和当归的薄层色谱鉴别结果良好。尿苷、阿魏酸、藁本内酯的线性范围分别为1.6～25.6 μg/mL、0.003 15～0.100 8 mg/mL、0.006～0.192 mg/mL（r均大于0.999）；精密度、稳定性、重复性、加样回收率试验的RSD均小于2%（n=6）；平均含量分别为0.081 2、0.100 0、0.396 9 mg/g。**结论**　所得最优制备工艺可用于鸡内金当归褥疮软膏的院内制剂生产；所建含量测定方法可用于该软膏的质量控制。

关键词　鸡内金当归褥疮软膏；制备工艺；质量标准；响应面法；薄层色谱法；高效液相色谱法

Study on preparation technology and quality standard of Jineijin danggui ruchuang ointment

PANG Xiaojun[1,2], XIE Yan[2], CHEN Xing[2] (1. Dept. of Clinical Pharmacy, the Second People's Hospital of Qinzhou, Guangxi Qinzhou 535000, China; 2. College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To optimize the preparation technology of Jineijin danggui ruchuang ointment and to establish its quality standard. **METHODS** Using oil phase dosage, emulsifier dosage and emulsification temperature as the indicators, the preparation technology of Jineijin danggui ruchuang ointment was optimized by response surface method. *Gallus gallus domesticus* and *Angelica sinensis* in the ointment were identified by TLC. The property of the ointment was observed, and its particle size and deliverable volume were inspected according to *Chinese Pharmacopoeia*. The contents of uridine, ferulic acid and ligustilide in the ointment were determined by high-performance liquid chromatography. **RESULTS** The optimal preparation technology of Jineijin danggui ruchuang ointment was as follows: 4.0 g of white vaseline, 7.0 g of liquid paraffin, 5.0 g of lanolin (oil phase), 0.44 g of triethanolamine as the emulsifier, and emulsification temperature of 78 ℃. Jineijin danggui ruchuang ointment prepared according to the optimal preparation method was a beige paste, and its particle size and deliverable volume inspection all met the requirements of the *Chinese Pharmacopoeia*. The identification of TLC for *G. gallus domesticus* and *A. sinensis* obtained satisfactory results. The linear ranges of uridine, ferulic acid and ligustilide were 1.6-25.6 μg/mL, 0.003 15-0.100 8 mg/mL, 0.006-0.192 mg/mL (all r>0.999). RSD for the inspection, stability, reproducibility and recovery tests were all less than 2% (n=6). The average contents of uridine, ferulic acid and ligustilide were 0.081 2, 0.100 0 and 0.396 9 mg/g, respectively. **CONCLUSIONS** The optimal preparation technology can be used for the production of the in-hospital preparation of Jineijin danggui ruchuang ointment; the content determination method can be used for the quality control of the ointment.

KEYWORDS　Jineijin danggui ruchuang ointment; preparation technology; quality standard; response surface method; thin layer chromatography; high-performance liquid chromatography

鸡内金为雉科动物家鸡*Gallus gallus domesticus* Brisson的干燥沙囊内壁，具有敛疮生肌、善化瘀血等功效，《奇效良方》记载其可止血收疮、治疮口不愈[1]。鸡内金有效成分中以尿苷含量较高，具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗炎和免疫调节等生物活性[2]。当归为伞形科植物当归*Angelica sinensis*（Oliv.）Diels的干燥根，具有益气补血、活血化瘀的功效，《伤寒论》记载其可治疗厥阴性本升、口伤烂赤及疮疡等症，能促进血管生成和创面修复[3]。阿魏酸是当归的有机酸成分，具有抗氧化、抑菌消炎、抗血栓、抗肿瘤、抗辐射等作用[4]；藁本内酯是当归挥发油中的主要成分之一，具有镇痛、抗炎、提高造血功能等作用[5]。此外，软膏制剂因具有柔软、渗透力强等特点，能使药物快速在皮肤上发挥作用，从而适用于溃疡、肿疡以及皮肤糜烂等病症的治疗[6]。本课题组参考上述

Δ**基金项目**　广西中医药适宜技术开发与推广项目（No.GZSY22-91）；钦州市科学研究与技术开发计划项目（No.202116621）

＊**第一作者**　主任药师，教授，硕士生导师，硕士。研究方向：临床药学、中药药理、药品临床综合评价。E-mail：pangxjun@163.com

文献制备了鸡内金当归褥疮软膏，经前期预实验证实，该药可减少压疮面积，促进创面组织再生与修复，具有补益气血、活血化瘀、生肌敛口等作用。

响应面法可通过建立连续变量曲面模型来评价影响生物过程的因子及其交互作用[7]，以确定最佳水平范围，具有实验模拟性强、所需实验组数相对较少等优点，已广泛用于药物制备工艺优化、食品加工等方面[8]。基于此，本课题组拟采用响应面法优化鸡内金当归褥疮软膏的制备工艺，以性状、粒度、装量限度等为指标进行质量标准研究，同时采用高效液相色谱（HPLC）法检测鸡内金当归褥疮软膏中尿苷、阿魏酸及藁本内酯的含量，旨在为该药的院内制剂生产提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用仪器主要有1260 Infinity Ⅱ LC型HPLC仪（美国Agilent公司）、LC-20AT型HPLC仪（日本Shimadzu公司）、KQ-300DB型超声波清洗仪（昆山市超声仪器有限公司）、HWS-24型电热恒温水浴锅（上海一恒科学仪器有限公司）、ME204型电子天平[梅特勒托利多科技（中国）有限公司]、DFY400摇摆式高速中药粉碎机（温岭市林大机械有限公司）、Master-Q30型去离子化纯水机（上海和泰仪器有限公司）、101-2-5-Ⅱ型电热恒温鼓风干燥箱（上海跃进医疗器械有限公司）、RE-300B型旋转蒸发仪（上海亚荣生化仪器厂）。

1.2 主要试剂与药品

阿魏酸对照品（批号C14534190，纯度99%）、藁本内酯对照品（批号C15648211，纯度98%）、尿苷对照品（批号C14883062，纯度99%）均购自上海麦克林生化科技有限公司；甲醇（分析纯，批号2023071101）、甲醇（色谱纯，批号LOT22085192）均购自安徽天地高纯溶剂有限公司；磷酸（优级纯，批号20211212）购自成都市科隆化学品有限公司；无水乙醇（分析纯，批号2022102101）、乙腈（色谱纯，批号LOTF22MAB201）均购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；水为纯水。

当归药材（产地甘肃，批号211220）购自钦州医药有限责任公司，鸡内金药材（产地河北，批号B22082401-01211220）购自河北楚风中药饮片有限公司，经广西国际壮医医院民族医药研究所黄瑞松主任药师鉴定均为真品。

2 方法与结果

2.1 鸡内金当归褥疮软膏的制备

2.1.1 主药的提取

取鸡内金药材，粉碎，过90目筛，得鸡内金细粉。取当归药材，粉碎，得当归粗粉；取当归粗粉，加入9倍量体积的70%乙醇，回流提取30 min，共3次；滤过，合并滤液，滤液减压浓缩成质量浓度为1 g/mL的流浸膏，即得当归提取物（阿魏酸的提取率为0.74%，藁本内酯的提取率为8.43%）。

2.1.2 软膏的制备

取当归提取物2.0 g、鸡内金细粉3.0 g，置于同一干燥烧杯中，加纯水溶解，得药物溶液。取白凡士林3.0 g、单硬脂酸甘油酯4.0 g、硬脂酸12.0 g、液体石蜡8.0 g、羊毛脂5.0 g，置于干燥烧杯中，加热作为油相。取乳化剂（三乙醇胺0.4 g）、保湿剂（甘油7.5 g）、防腐剂（羟苯乙酯0.3 g，用少量纯水和乙醇混合溶解）置于干燥烧杯中，加热作为水相。当油相与水相加热至75 ℃时，先将药物溶液加入水相，再将油相缓慢加入水相中，搅拌，然后加入纯水至100 g，维持75 ℃搅拌10 min，停止加热，继续搅拌冷却至室温，即得软膏。

2.2 鸡内金当归褥疮软膏制备工艺各评价指标的评分标准

根据2020年版《中国药典》（四部）“0109乳膏剂、软膏剂”[9]及相关研究[10]，以外观性状、涂布性、离心稳定性、耐热稳定性、耐寒稳定性和pH值等为评价指标对制备的鸡内金当归褥疮软膏进行评分，各指标的总分均为10分。具体如下：（1）外观性状：软膏细腻、均匀，无颗粒感、无气泡、油水无分层，为0.7～1分；软膏细腻、均匀度适中，有小颗粒、小气泡、部分油水分层，为0.3～0.6分；软膏不细腻、均匀，有大颗粒、大气泡、油水完全分层，为0～0.2分。（2）涂布性试验：软膏细腻、均匀、延展性良好，为1.7～2分；软膏细腻、均匀度适中、延展性适中，为1.0～1.6分；软膏不细腻、均匀，有大颗粒，延展性较差，不成形，为0分。（3）离心稳定性试验：油水无分层现象、无液化、无硬化、无药液渗出为2分，反之为0分。（4）耐热稳定性试验：油水无分层现象、颜色米白色为1.6～2分；部分油水分层、颜色有变化为1～1.5分；油水完全分层为0分。（5）耐寒稳定性试验：油水无分层现象、颜色乳白色、无药液渗出为1.7～2分；油水部分分层、颜色有变化、药液轻微渗出为1～1.6分；油水完全分层为0分。（6）pH值：pH 6.5～8为1分，否则为0分。

2.3 鸡内金当归褥疮软膏的单因素实验

本课题组经前期预实验及参考文献[11]后发现，油相（白凡士林、液体石蜡、羊毛脂）、乳化剂用量和乳化温度是影响软膏工艺的主要因素，故本研究分别以油相、乳化剂用量以及乳化温度为指标进行单因素实验，且各因素用量均参考文献[11]。

2.3.1 不同油相用量的单因素实验

取当归提取物2.0 g、鸡内金细粉3.0 g，除白凡士林、液体石蜡、羊毛脂外的其他油相及其他辅料用量均按“2.1.2”项下称/量取，然后按“2.1.2”项下方法制备鸡内金当归褥疮软膏，分别考察不同白凡士林、液体石蜡、羊毛脂用量对软膏外观性状、涂布性、离心稳定性、耐热稳定性、耐寒稳定性和pH值的影响。结果显示，随着白凡士林、液体石蜡、羊毛脂用量的增加，各指标对应的总分均呈先增加后降低趋势，故选择白凡士林用量分别为3、4、5 g，液体石蜡6、7、8 g，羊毛脂3、5、7 g进行后续实验。结果见表1。

表1　不同油相的单因素考察结果

因素	用量/g	外观性状/分	涂布性/分	离心稳定性/分	耐热稳定性/分	耐寒稳定性/分	pH值/分	总分
白凡士林	1	1	2	0	2	2	1	8
	3	1	1.8	2	2	2	1	9.8
	4	1	2	2	2	2	1	10
	5	0.7	1.7	2	2	2	1	9.4
	7	1	1	2	2	2	1	9
液体石蜡	5	1	1.5	2	1.8	2	1	9.3
	6	1	1.7	2	1.8	2	1	9.5
	7	1	2	2	2	2	1	10
	8	1	1.8	2	2	2	1	9.8
	9	1	1.6	2	2	2	1	9.6
羊毛脂	1	1	1.5	2	1.6	2	1	9.1
	3	1	1.8	2	1.8	2	1	9.6
	5	1	2	2	2	2	1	10
	7	1	1.9	2	1.8	2	1	9.7
	10	1	1.6	2	1.8	2	1	9.4

2.3.2　不同乳化剂用量的单因素实验

取当归提取物2.0 g、鸡内金细粉3.0 g，油相及其他辅料用量均按“2.1.2”项下称/量取，然后按“2.1.2”项下方法制备鸡内金当归褥疮软膏，考察不同三乙醇胺用量对软膏外观性状、涂布性、离心稳定性、耐热稳定性、耐寒稳定性和pH值的影响。结果显示，随着三乙醇胺用量的增加，各指标的总分逐渐增加，故选择三乙醇胺用量0.3、0.4、0.5 g进行后续实验。结果见表2。

表2　三乙醇胺的单因素考察结果

用量/g	外观性状/分	涂布性/分	离心稳定性/分	耐热稳定性/分	耐寒稳定性/分	pH值/分	总分
0.1	0	0	0	0	1	0	1
0.2	0.5	0	0	0	1	1	2.5
0.3	1	1.5	2	2	2	1	9.5
0.4	1	2	2	2	2	1	10
0.5	1	1.8	2	2	2	1	9.8

2.3.3　不同乳化温度的单因素实验

取当归提取物2.0 g、鸡内金细粉3.0 g，油相及其他辅料用量均按“2.1.2”项下称/量取，然后按“2.1.2”项下方法制备鸡内金当归褥疮软膏，考察不同乳化温度对软膏外观性状、涂布性、离心稳定性、耐热稳定性、耐寒稳定性和pH值的影响。结果显示，随着乳化温度的增加，各指标的总分呈先增加后降低趋势，故选择乳化温度为75、80、85 ℃进行后续实验。结果见表3。

表3　乳化温度的单因素考察结果

温度/℃	外观性状/分	涂布性/分	离心稳定性/分	耐热稳定性/分	耐寒稳定性/分	pH值/分	总分
70	0.5	1.5	2	2	2	1	9
75	1	1.8	2	2	2	1	9.8
80	1	2	2	2	2	1	10
85	0.8	1.8	2	2	2	1	9.6
90	0.5	1.6	2	2	1.8	1	8.9

2.4　响应面法优化试验

2.4.1　因素与水平

以不同油相用量（*A*）、三乙醇胺用量（*B*）和乳化温度（*C*）为指标，采用响应面法优化鸡内金当归褥疮软膏的制备工艺。因素与水平见表4。

表4　响应面实验的因素与水平

水平	*A*/g			*B*/g	*C*/℃
	白凡士林	液体石蜡	羊毛脂		
1	3	6	3	0.3	75
2	4	7	5	0.4	80
3	5	8	7	0.5	85

2.4.2　试验方案与结果

响应面法优化的试验方案与结果见表5。

表5　试验方案与结果

序号	*A*	*B*	*C*	外观性状	涂布性	离心稳定性	耐热稳定性	耐寒稳定性	pH值	总分
1	1	1	2	0.5	1	2	1.6	2	1	8.1
2	3	1	2	0.7	1.7	2	0	2	1	7.4
3	1	3	2	0.5	1.4	2	2	2	1	8.9
4	3	3	2	0.6	1.5	2	1.5	2	1	8.6
5	1	2	1	0.7	1.5	2	2	2	1	9.2
6	3	2	1	0.5	1	2	2	2	1	8.5
7	1	2	3	0.7	1.5	2	2	2	1	9.2
8	3	2	3	0.6	1.5	1.8	1.5	2	1	8.4
9	2	1	1	0.7	1.4	2	1.5	2	1	8.6
10	2	3	1	0.8	1.6	2	2	2	1	9.4
11	2	1	3	0.6	1	2	1.5	2	1	8.1
12	2	3	3	0.8	1.5	2	2	2	1	9.3
13	2	2	2	1	1.8	2	1.9	2	1	9.7
14	2	2	2	0.8	1.8	2	1.8	2	1	9.4
15	2	2	2	1	1.7	2	1.9	2	1	9.6
16	2	2	2	0.7	2	2	2	2	1	9.7
17	2	2	2	0.8	1.7	2	2	2	1	9.5

2.4.3　模型拟合

采用Design-Expert 13.0软件对表5中的数据进行处理，以各因素的总分为指标进行多元非线性回归拟合，得到回归方程为 $Y=9.58-0.312\,5A+0.5B-0.087\,5C+0.1AB-0.025AC+0.1BC-0.677\,5A^2-0.652\,5B^2-0.077\,5C^2$（$R^2=0.981\,6$）。二次多项回归方程模拟项的 P 值＜0.05，表明回归方程与总分显著相关；失拟项的 P 值＞0.05，表明非正常误差所占比例小，未知因素对试验结果的干扰较少，提示该模型能较准确地预测实际情况。结果见表6。

表6　方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*
模型	6.950	9	0.772	41.45	＜0.000 1
A	0.781	1	0.781	41.91	0.000 3
B	2.000	1	2.000	107.28	＜0.000 1
C	0.061	1	0.061	3.29	0.112 8
AB	0.040	1	0.040	2.15	0.186 4
AC	0.002	1	0.002	0.13	0.725 0
BC	0.040	1	0.040	2.15	0.186 4
A^2	1.930	1	1.930	103.67	＜0.000 1
B^2	1.790	1	1.790	96.16	＜0.000 1
C^2	0.025	1	0.025	1.36	0.282 3
残差	0.130	7	0.018		
失拟项	0.062	3	0.020	1.23	0.409 5
纯误差	0.068	4	0.017		
总和	7.080	16			

2.4.4　最优制备工艺的确定

依据二次多项式回归模型，采用Design-Expert 13.0软件绘制各因素的三维响应面图和等高线图（图1），得

到回归模型最大值，即最优制备工艺对应的白凡士林用量为4.0 g、液体石蜡为7.0 g、羊毛脂为5.0 g、三乙醇胺为0.44 g、乳化温度为78 ℃，预测各指标的总分为9.7分。

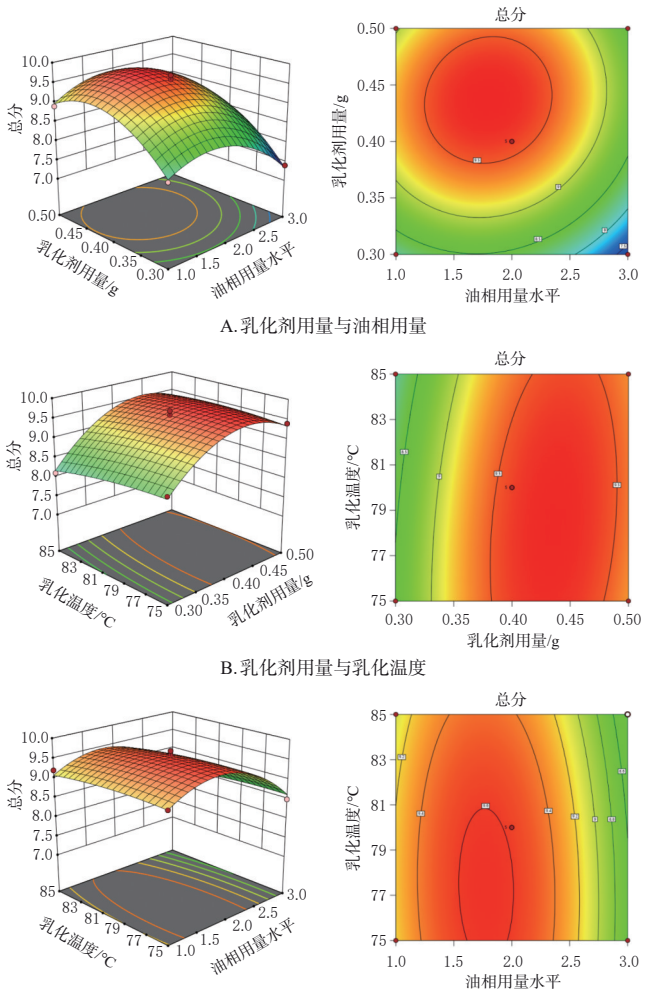


图1　各因素的三维响应面图和等高线图

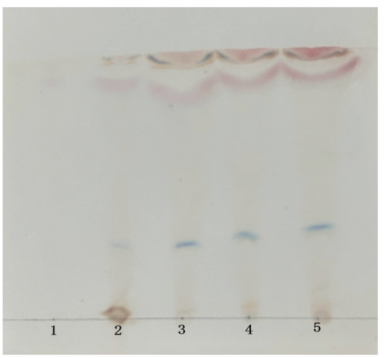
2.4.5　验证实验

取当归提取物2.0 g、鸡内金细粉3.0 g，除白凡士林、液体石蜡、羊毛脂外的其他油相及其他辅料用量均按“2.1.2”项下称/量取，白凡士林、液体石蜡、羊毛脂、三乙醇胺、乳化温度按“2.4.4”项下所得最优制备工艺设置，然后按“2.1.2”项下方法制备鸡内金当归褥疮软膏，共3批。所得样品按“2.2”项下方法进行评分，得到3批样品的总分分别为9.8、9.9、9.8分，平均为9.833分（RSD为0.587%），与预测值（9.7分）相近。

2.5　鸡内金当归褥疮软膏的薄层鉴别

2.5.1　鸡内金的薄层鉴别

取按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏5.0 g，加入正丁醇饱和水溶液30 mL，振摇溶解后，超声处理30 min，滤过；取滤液，静置6 h，蒸干，得残渣；残渣加入甲醇2 mL溶解，作为供试品溶液。取鸡内金药材细粉0.3 g，加入正丁醇饱和水溶液30 mL，超声处理30 min，滤过，取滤液，蒸干，得残渣；残渣加入甲醇2 mL溶解，作为鸡内金对照药材溶液。按最优工艺制备不含鸡内金的软膏，按上述供试品溶液制备方法制得鸡内金阴性对照溶液。根据2020年版《中国药典》（四部）通则“0502薄层色谱法”[9]，吸取上述各溶液5 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-丙酮-甲酸（9.5∶0.5∶0.5，*V/V/V*）作为展开剂，展开，晾干；喷以含5%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液，于105 ℃加热至斑点显色清晰，日光下检视。结果显示，供试品色谱与对照药材色谱在相同位置上呈现相同颜色的斑点，阴性对照溶液无相同斑点。结果见图2。



1：鸡内金阴性对照溶液；2～4：供试品溶液；5：鸡内金对照药材溶液。

图2　鸡内金的薄层色谱鉴别图

2.5.2　当归的薄层鉴别

取按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏5.0 g，加入甲醇30 mL，超声提取30 min，以3 500 r/min离心15 min，取上清液，蒸干，得残渣；残渣加入甲醇2 mL溶解，作为供试品溶液。精密称取阿魏酸、藁本内酯对照品各20.0 mg，分别用甲醇定容至10 mL容量瓶中，得质量浓度均为2 mg/mL的单一对照品溶液。取上述各单一对照品溶液100 μL，置于1 mL容量瓶中，加入甲醇定容，得质量浓度均为0.2 mg/mL混合对照品溶液。取当归药材0.3 g，加入甲醇30 mL，超声提取30 min，以3 500 r/min离心15 min，取上清液，蒸干，得残渣；残渣加入甲醇2 mL溶解，作为当归对照药材溶液。按最优工艺制备不含当归提取物的软膏，按上述供试品溶液制备方法制得当归阴性对照溶液。根据2020年版《中国药典》（四部）通则“0502薄层色谱法”[9]，吸取上述各溶液5 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以甲苯-乙酸乙酯-甲酸（5∶1∶1，*V/V/V*）作为展开剂[12]，展开，晾干，喷以含5%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液，于105 ℃加热至斑点显色清晰，紫外灯下检视。结果显示，供试品色谱与对照药材色谱在相同位置上呈现相同的斑点，阴性对照溶液无相同斑点。结果见图3。

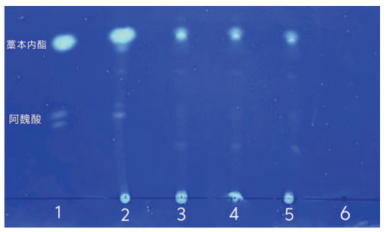
2.6　检查

2.6.1　性状

肉眼观察鸡内金当归褥疮软膏为米白色膏状。

2.6.2　粒度检查

取按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏3批，分别按2020年版《中国药典》（四部）通则“0982粒度和粒



1：混合对照品溶液；2：当归对照药材溶液；3～5：供试品溶液；6：当归阴性对照溶液。

图3　当归的薄层色谱鉴别图

度分布测定法”中“第一法（显微镜法）”[9]进行粒度检查。结果显示，3批样品均未检出粒度＞180 μm的粒子，符合2020年版《中国药典》规定。

2.6.3　装量检查

鸡内金当归褥疮软膏的标示装量为50 g。取按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏3批，分别按2020年版《中国药典》（四部）通则“0942最低装量检查法”[9]进行装量检查。结果显示，3批样品的平均装量为50.003 7 g，标示装量均大于95%，符合2020年版《中国药典》规定。

2.7　鸡内金当归褥疮软膏的含量测定

2.7.1　供试品溶液的制备

（1）尿苷供试品溶液：精密称定按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏8.0 g，加入30%甲醇50 mL，超声提取90 min，放冷至室温，以10 000 r/min离心30 min，取上清液，蒸干，然后用5%甲醇定容至5 mL容量瓶中，制得尿苷供试品溶液。

（2）阿魏酸、藁本内酯供试品溶液：精密称定按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏10.0 g，加入甲醇溶解后静置30 min，以3 500 r/min离心15 min，取上清液，蒸干，然后用甲醇定容至5 mL容量瓶中，制得阿魏酸、藁本内酯供试品溶液。

2.7.2　对照品溶液的制备

精密称取尿苷对照品2.0 mg，加入5%甲醇定容至10 mL容量瓶中，得质量浓度为0.2 mg/mL的尿苷对照品溶液。精密称取阿魏酸、藁本内酯对照品各20.0 mg，分别用甲醇定容至10 mL容量瓶中，得质量浓度均为2 mg/mL的单一对照品溶液；精密吸取2种单一对照品溶液各100 μL，置于10 mL容量瓶中，加入甲醇定容，得2种成分质量浓度均为0.02 mg/mL的混合对照品溶液。

2.7.3　阴性样品溶液的制备

分别取按最优工艺制备的不含鸡内金药材或当归提取物的软膏8.0 g，按“2.7.1”项下方法制备各阴性样品溶液。

2.7.4　尿苷检测的色谱条件

以Waters XSelect® HSS T3（250 mm×4.6 mm，5 μm）为色谱柱，以甲醇（A）-水（B）为流动相进行梯度洗脱（0～6 min，100%B；6～26 min，100%B→98%B；26～46 min，98%B；46～50 min，98%B→95%B；50～55 min，95%B→100%B；55～70 min，100%B）；检测波长为254 nm；流速为0.8 mL/min；柱温为30 ℃；进样量为10 μL[13]。

2.7.5　阿魏酸、藁本内酯检测的色谱条件

以Diamonsil C_{18}（2）（250 mm×4.6 mm，5 μm）为色谱柱，以0.1%磷酸（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～7 min，35%B→50%B；7～7.01 min，50%B→75%B；7.01～15 min，75%B；15～15.01 min，75%B→35%B；15.01～20 min，35%B）；检测波长为316 nm；流速为1 mL/min；柱温为30 ℃；进样量为10 μL[14]。

2.7.6　专属性试验

分别精密吸取上述各供试品溶液、对照品溶液和阴性样品溶液，按“2.7.4”“2.7.5”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，供试品色谱与对照品色谱在相同保留时间处出现色谱峰，阴性样品无干扰。结果见图4、图5。

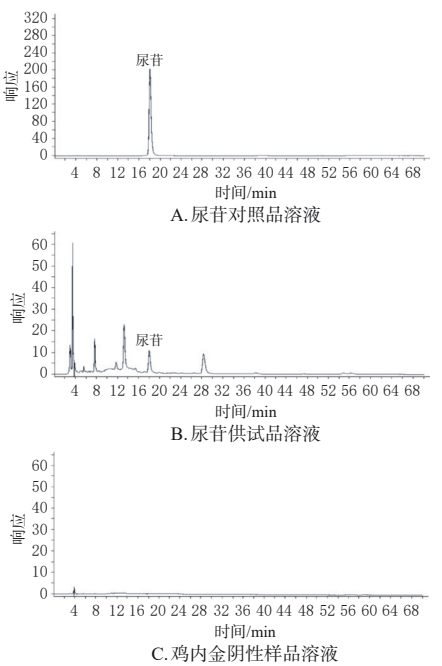


图4　尿苷的HPLC图

2.7.7　线性关系考察

精密吸取“2.7.2”项下尿苷对照品溶液，用5%甲醇稀释，得系列质量浓度的尿苷标准曲线溶液（1.6、3.2、6.4、12.8、25.6 μg/mL）。精密吸取“2.7.2”项下藁本内酯单一对照品溶液，用甲醇稀释，得系列质量浓度的藁本内酯标准曲线溶液（0.006、0.012、0.024、0.048、0.096、0.192 mg/mL）。精密称取阿魏酸对照品10.5 mg，加入甲醇定容至10 mL容量瓶中，得质量浓度为1.05 mg/mL的阿魏酸对照品溶液；用甲醇稀释，得系列质量浓度的阿魏酸标准曲线溶液（0.003 15、0.006 3、0.012 6、0.025 2、0.050 4、0.100 8 mg/mL）。以各成分质量浓度为横坐标（x）、峰面积为纵坐标（y）进行线性回归。结果见表7。

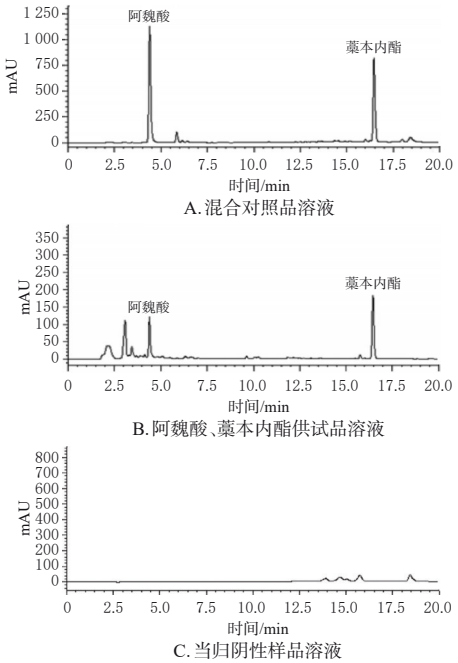


图5　阿魏酸、藁本内酯的HPLC图

表7　尿苷等3种成分的回归方程与线性范围

待测成分	回归方程	r	线性范围
尿苷	y=26.542x+1.099 6	0.999 9	1.6~25.6 μg/mL
阿魏酸	y=4 489 505x−26 647	0.999 6	0.003 15~0.100 8 mg/mL
藁本内酯	y=1 584 673x−4 723.5	0.999 8	0.006~0.192 mg/mL

2.7.8　精密度试验

精密吸取“2.7.7”项下尿苷标准曲线溶液（质量浓度为25.6 μg/mL）、“2.7.2”项下阿魏酸及藁本内酯的混合对照品溶液，分别按“2.7.4”“2.7.5”项下色谱条件连续进样测定6次，记录峰面积。结果显示，尿苷、阿魏酸、藁本内酯峰面积的RSD分别为0.10%、0.24%、0.59%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.7.9　稳定性试验

取“2.7.1”项下供试品溶液，分别于室温下放置0、2、6、8、12、24 h时按“2.7.4”“2.7.5”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，尿苷、阿魏酸、藁本内酯峰面积的RSD分别为0.40%、0.31%、0.26%（n=6），表明2种供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.7.10　重复性试验

精密称取按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏，每份10.0 g，共6份，按“2.7.1”项下方法制备供试品溶液，再按“2.7.4”“2.7.5”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并按标准曲线法计算含量。结果显示，尿苷、阿魏酸、藁本内酯含量的RSD分别为0.77%、0.76%、0.11%（n=6），表明方法重复性良好。

2.7.11　加样回收率试验

取已知含量的按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏，每份8.0 g，共6份，精密称定，置于具塞锥形瓶中，加入尿苷对照品0.8 mg，按“2.7.1(1)”项下方法制备供试品溶液；另取已知含量的按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏，每份1.0 g，共6份，置于具塞锥形瓶中，加入阿魏酸对照品0.1 mg、藁本内酯对照品0.4 mg，按“2.7.1(2)”项下方法制备供试品溶液；取上述供试品溶液，分别按“2.7.4”“2.7.5”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算加样回收率。结果显示，尿苷、阿魏酸、藁本内酯的平均加样回收率分别为98.74%（RSD=1.48%，n=6）、98.65%（RSD=1.43%，n=6）、99.15%（RSD=1.53%，n=6），表明该方法准确度良好。

2.7.12　样品含量测定

按“2.4.4”项下最优工艺制备3批鸡内金当归褥疮软膏，按“2.7.1”项下方法制备供试品溶液，分别按“2.7.4”“2.7.5”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并按标准曲线法计算含量。结果显示，尿苷、阿魏酸、藁本内酯的平均含量分别为0.081 2、0.100 0、0.396 9 mg/g。根据文献[15]确定各成分的含量限度（不得低于平均含量的80%），即以阿魏酸和藁本内酯含量总和计每克样品含当归不得少于0.397 5 mg，以尿苷计每克样品含鸡内金不得少于0.065 0 mg。结果见表8。

表8　3批样品含量测定结果

样品编号	尿苷/(mg/g)	阿魏酸/(mg/g)	藁本内酯/(mg/g)
1	0.081 5	0.098 0	0.400 4
2	0.081 9	0.101 3	0.399 7
3	0.080 1	0.100 6	0.390 7
平均含量/(mg/g)	0.081 2	0.100 0	0.396 9
RSD/%	1.17	1.72	1.37

3　讨论

本研究得到的最优制备工艺为白凡士林4.0 g、液体石蜡7.0 g、羊毛脂5.0 g、三乙醇胺0.44 g、乳化温度78 ℃。经验证，得到鸡内金当归褥疮软膏的平均总分为9.833分，表明该工艺稳定、可行，重复性良好，可用于实际生产。含量测定结果显示，按最优工艺制备的鸡内金当归褥疮软膏中尿苷、阿魏酸、藁本内酯的平均含量分别为0.081 2、0.100 0、0.396 9 mg/g。

在鸡内金的薄层色谱鉴别中，由于2020年版《中国药典》（一部）未记载鸡内金的薄层色谱鉴别方法，本课题组通过查阅相关文献[16]，将样品采用正丁醇饱和水溶液处理，再以三氯甲烷-丙酮-甲酸（9.5∶0.5∶0.1，$V/V/V$）作为展开剂，喷以含5%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液后，于105 ℃加热，发现样品并未显现与对照药材相同的斑点；而采用“2.5.1”项下薄层色谱条件时，斑点清晰可见，分离效果良好，且无干扰。

本课题组前期发现，以乙腈-0.085%磷酸为流动相，采用梯度洗脱法可成功分离藁本内酯，但未能检测到阿魏酸；进一步优化色谱条件后，将磷酸溶液浓度由0.085%提升至0.1%，成功提高了阿魏酸和藁本内酯的分离度。此外，本课题组前期分别采用30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇50 mL为溶剂制备尿苷供试品溶液，得到尿苷的含量分别为69.838、62.831、21.406 μg/g，表明随着甲醇体积分数升高，尿苷含量逐步下降；分别提取60、90、120 min时，得到尿苷的含量分别为39.713、81.413、77.606 μg/g，表明随着提取时间延长，尿苷含量

先升高后下降。故选用30%甲醇50 mL超声提取90 min制备尿苷供试品溶液。

综上所述，所得最优制备工艺可用于鸡内金当归褥疮软膏的院内制剂生产；所建含量测定方法可用于鸡内金当归褥疮软膏的质量控制。

参考文献

[1] 李玉国，姜立娟，崔巍，等. 鸡内金的功效、应用及用量研究[J]. 长春中医药大学学报，2021，37(4)：930-933.
LI Y G，JIANG L J，CUI W，et al. A study on the efficacy，application and dosage of inner membrane of chicken gizzard[J]. J Changchun Univ Chin Med，2021，37(4)：930-933.

[2] 樊佳，刘晓谦，孟辰笑凝，等. 基于HPLC指纹图谱与核苷类成分含量测定的鸡内金质量评价研究[J]. 中国中药杂志，2023，48(1)：114-125.
FAN J，LIU X Q，MENG C X N，et al. Quality evaluation of Galli Gigerii Endothelium Corneum based on HPLC fingerprints and content determination of nucleosides [J]. China J Chin Mater Med，2023，48(1)：114-125.

[3] 尤旭颖，袁红霞.《神农本草经》与经方应用之当归篇[J]. 山东中医药大学学报，2023，47(1)：1-6.
YOU X Y，YUAN H X. *Shennong's Classic of Materia Medica* and Danggui（Angelicae Sinensis Radix）in application of classical formulas[J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med，2023，47(1)：1-6.

[4] 胡静，李科，李爱平，等. 当归补血汤物质基础研究进展[J]. 中草药，2020，51(21)：5658-5663.
HU J，LI K，LI A P，et al. Research progress on material basis of Danggui buxue decoction[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2020，51(21)：5658-5663.

[5] 马俊飞，赵继荣，史凡凡，等. 当归镇痛的药效物质基础及作用机制研究进展[J]. 中医药信息，2023，40(9)：71-75，81.
MA J F，ZHAO J R，SHI F F，et al. Research progress in pharmacodynamic substance basis and mechanism of *Radix Angelica sinensis*[J]. Inf Tradit Chin Med，2023，40(9)：71-75，81.

[6] 张来根，王培民. 中医药贴敷疗法发展及应用[J]. 世界中医药，2018，13(11)：2932-2936.
ZHANG L G，WANG P M. Development and application of external application therapy[J]. World Chin Med，2018，13(11)：2932-2936.

[7] 王勃，张晓燕，吕辰子，等. 多指标-响应曲面法优选酒炖熟地黄最佳炮制工艺[J]. 中草药，2019，50(9)：2065-2073.
WANG B，ZHANG X Y，LYU C Z，et al. Process optimization for Rehmanniae Radix Praeparata with yellow wine stewing by multi-index-response surface method[J]. Acupunct Res，2019，50(9)：2065-2073.

[8] 夏晨，谈戈. 浅谈我院中药软膏剂的制备工艺与质量控制[J]. 北方药学，2016，13(3)：112-113.
XIA C，TAN G. Discussion on preparation technology and quality control of traditional Chinese medicine ointment in our hospital[J]. J N Pharm，2016，13(3)：112-113.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[M]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：11-12，138，145-147，170-171.
National Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia：part Ⅳ[M]. 2020 edition. Beijing：China Medical Science and Technology Press，2020：11-12，138，145-147，170-171.

[10] 郭星妤，俞越童，崔述生，等. 复方血竭跌打膏的制剂工艺、指纹图谱及含量测定研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化，2023，25(5)：1803-1810.
GUO X Y，YU Y T，CUI S S，et al. Study on preparation technology，fingerprint and content determination of Fufang xuejie dieda ointment[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol，2023，25(5)：1803-1810.

[11] 赵雨. 中药复方舒肤膏的制备、质量标准研究及药效学研究[D]. 武汉：湖北中医药大学，2020.
ZHAO Y. Study on preparation，quality standard and pharmacodynamics of Compound shufu ointment[D]. Wuhan：Hubei University of Chinese Medicine，2020.

[12] 谢晓林，李娟，张德柱，等. 经典名方当归补血汤物质基准的质量标准研究[J]. 世界中医药，2023，18(11)：1541-1546.
XIE X L，LI J，ZHANG D Z，et al. Quality standards of Danggui buxue decoction[J]. World Chin Med，2023，18(11)：1541-1546.

[13] 刘天祎，张思琦，张志强，等. 醋鸡内金配方颗粒的特征图谱建立及指标成分含量测定[J]. 中国民族民间医药，2023，32(3)：23-27，35.
LIU T Y，ZHANG S Q，ZHANG Z Q，et al. Establishment of characteristic chromatogram combined with content determination of target components in vinegar-processed *Gallus gallus domesticus* formula granules[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm，2023，32(3)：23-27，35.

[14] 郭童童. 膝痹膏的制备工艺、质量标准及其皮肤安全性评价研究[D]. 乌鲁木齐：新疆医科大学，2019.
GUO T T. Study on preparation technology，quality standard and skin safety evaluation of Xibi ointment[D]. Urumqi：Xinjiang Medical University，2019.

[15] 张荳. 壁虎烘制工艺及烘制品质量评价研究[D]. 北京：北京中医药大学，2020.
ZHANG D. Study on baking technology of gecko and quality evaluation of baked products[D]. Beijing：Beijing University of Chinese Medicine，2020.

[16] 李虹，郭宏伟，沈书博. 肾石通丸质量标准的研究[J]. 中国药品标准，2012，13(4)：268-271.
LI H，GUO H W，SHEN S B. Study on quality standard for Shenshitong pills[J]. Drug Stand China，2012，13(4)：268-271.

（收稿日期：2024-08-22　修回日期：2025-01-24）
（编辑：陈　宏）