

中图分类号: R944.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)16-0077-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.16.014



杀菌止痒洗液质量标准研究*

姜一朴¹, 陈刚¹, 金涌^{2△}

(1. 安徽省阜阳市太和县中医院, 安徽 阜阳 236600; 2. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032)

摘要:目的 建立杀菌止痒洗液的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对蛇床子、黄柏、地肤子和百部进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定菊苣酸含量。色谱柱为 Thermo Scientific Synchronis C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.2% 磷酸溶液(16:84, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 326 nm, 柱温为 30 °C, 进样量为 5 μL。结果 蛇床子、黄柏、地肤子和百部的 TLC 图斑点清晰, 分离度良好, 阴性对照无干扰。菊苣酸进样量在 0.032 15~0.289 35 μg 范围内与峰面积的线性关系良好($r=0.999\ 9, n=5$); 精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 平均加样回收率为 99.04%, RSD 为 1.76%($n=6$)。3 批样品中菊苣酸的平均含量为 59.27 μg/mL, 暂定制剂中菊苣酸含量不得少于 35.79 μg/mL。结论 该研究中建立的质量标准操作简便, 结果稳定可靠, 可用于杀菌止痒洗液的质量控制。

关键词: 杀菌止痒洗液; 含量测定; 菊苣酸; 质量标准

Study on Quality Standard of Shajun Zhiyang Lotion

JIANG Yipu¹, CHEN Gang¹, JIN Yong²

(1. Taihe County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fuyang, Anhui, China 236600; 2. School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China 230032)

Abstract: Objective To establish quality standard of Shajun Zhiyang Lotion. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) was used to identify Cnidii Fructus, Phellodendri Chinensis Cortex, Kochiae Fructus, Stemonae Radix. The content of chicoric acid was determined by high performance liquid chromatography. The chromatographic column was Thermo Scientific Synchronis C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.2% phosphoric acid solution (16:84, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 326 nm, the column temperature was 30 °C and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spots of Cnidii Fructus, Phellodendri Chinensis Cortex, Kochiae Fructus, Stemonae Radix were clear and well separated, and the negative control had no interference. The linear range of chicoric acid was 0.032 15 - 0.289 35 μg ($r=0.999\ 9, n=5$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery was 99.04%, and the RSD was 1.76%($n=6$). The average content of chicoric acid in three batches of samples was 59.27 μg/mL, and the content of chicoric acid in the tentative preparation should not be lower than 35.79 μg/mL. **Conclusion** The quality standard established in this study is simple, stable and reliable, and can be used for the quality control of Shajun Zhiyang Lotion.

Key words: Shajun Zhiyang Lotion; content determination; chicoric acid; quality standard

杀菌止痒洗液为太和县中医院常用医院制剂,由蒲公英、败酱草、百部、地肤子、蛇床子、黄柏、苍术、白及、冰片9味中药组方,有清热解毒、利湿止带、杀菌止痒功效,临床主要用于治疗湿毒互结,浊气浸淫下焦,任带受累,导致带下量多、阴痒阴肿、溃烂之证,相当于现代医学中的外阴瘙痒症、外阴炎、阴道炎、外阴溃疡、外阴营养不良、外阴湿疹等。方中蒲公英和败酱草共为君药,百部、地肤子、蛇床子共为臣药,苍术、黄柏共为佐药,白及、冰片共为使药。现代药理学研究证明,蒲公英中菊苣酸可作用于多种炎性信号通路,并下调炎性因子表达,抗炎效果明显^[1-3]。现行质量标准存在标注

不清、成分混杂等问题。鉴于此,本研究中对蛇床子、黄柏、地肤子和百部进行薄层色谱(TLC)鉴别,并采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中菊苣酸的含量。为有效提升杀菌止痒洗液的质量标准提供技术支撑。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

U-3000型高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ZF-1型三用紫外仪(北京市永光明医疗仪器有限公司); XSR205DU/A型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精度为 0.01 mg); RV-211M型旋

*基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目[2022e07020040]。

第一作者:姜一朴,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为制剂分析与质量控制,(电子信箱)jjypu94@163.com。

△通信作者:金涌,男,博士研究生,教授,研究方向为制剂分析,(电子信箱)jinyong@ahmu.edu.cn。

转蒸发仪(北京信凯科技有限公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DHG-9053型电热恒温鼓风干燥箱(上海三发科学仪器有限公司)。

1.2 试药

杀菌止痒洗液(太和县中医院中药制剂室,批号为21081701、21081901、21082401);百部对照药材(批号为121221-201604),地肤子对照药材(批号为121148-201804),蛇床子素对照品(批号为110822-201710,含量99.5%),盐酸小檗碱对照品(批号为110713-201814,含量86.7%),菊苣酸对照品(批号为111752-202104,含量99.1%),均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);乙腈和甲醇均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。蒲公英饮片(安徽守正中中药饮片有限公司,批号为2104060052)。

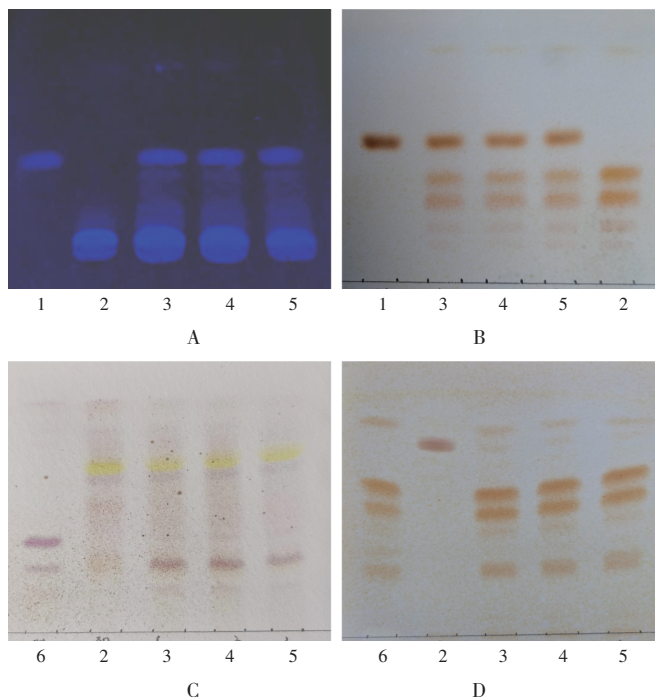
2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

蛇床子^[4-5]:取样品30 mL,置分液漏斗中,加入30 mL乙醚,振摇提取2次,合并上层乙醚液,加入20 mL碳酸氢钠饱和溶液,分取上层乙醚液,置通风橱中挥干,加1 mL乙醇使溶解,作为供试品溶液。取蛇床子素对照品适量,加乙醇制成每1 mL含1 mg的对照品溶液。按杀菌止痒洗液处方和工艺制备缺蛇床子的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(一部)》通则0502薄层色谱法试验,吸取上述3种溶液各10 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(17:4, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 A。

黄柏^[6-7]:取样品30 mL,置分液漏斗中,加入30 mL三氯甲烷,振摇提取2次,合并下层三氯甲烷液,以旋转蒸发仪蒸干,残渣加1 mL甲醇使溶解,作为供试品溶液。取盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的对照品溶液。按杀菌止痒洗液处方和工艺制备缺黄柏的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(一部)》通则0502薄层色谱法试验,吸取上述3种溶液各5 μ L,分别点于同一硅胶薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水(8:1:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾溶液,置日光下检视。结果,供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 B。

地肤子^[7]:取样品30 mL,置分液漏斗中,加入30 mL



1. 对照品溶液 2. 阴性对照品溶液 3-5. 供试品溶液

6. 对照药材溶液

A. 蛇床子 B. 黄柏 C. 地肤子 D. 百部

图1 薄层色谱图

1. Reference solution 2. Negative reference solution 3-5. Test solution

6. Reference medicinal solution

A. Cnidii Fructus B. Phellodendri Chinensis Cortex C. Kochiae Fructus

D. Stemonae Radix

Fig.1 TLC chromatograms

乙酸乙酯,振摇提取2次,弃乙酸乙酯液,水液置盛有30 mL水饱和正丁醇的分液漏斗中,振摇提取2次,合并正丁醇液,用50 mL氨试液洗涤,旋转蒸发仪蒸干,残渣加1 mL甲醇使溶解,作为供试品溶液。取地肤子对照药材1 g,置锥形瓶中,加10 mL甲醇,超声(功率300 W、频率40 kHz,下同)处理30 min,滤过,取续滤液,作为对照药材溶液。按杀菌止痒洗液处方和工艺制备缺地肤子的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(一部)》通则0502薄层色谱法试验,吸取上述3种溶液各5 μ L,分别点于同一硅胶薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(16:9:2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,置电热恒温鼓风干燥箱内加热至斑点显色,置日光下检视。结果,供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 C。

百部^[8-9]:取样品30 mL,置分液漏斗中,加入2 mL浓氨溶液,混匀,再加入30 mL乙醚,振摇提取3次,合并乙醚液,置通风橱中挥干,残渣加1 mL乙醇使溶解,作为供试品溶液。取百部对照药材2 g,置锥形瓶中,加

15 mL 甲醇, 超声处理 30 min, 取续滤液, 作为对照药材溶液。按杀菌止痒洗液处方和工艺制备缺百部的阴性样品, 并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按 2020 年版《中国药典(一部)》通则 0502 薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-丙酮-氨水(6:4:4:1, V/V/V/V) 上层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以稀碘化铋钾溶液, 置日光下检视。结果, 供试品溶液色谱在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 且阴性对照无干扰。详见图 1 D。

2.2 含量测定^[5,10]

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Thermo Scientific Synchronis C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.2% 磷酸溶液(16:84, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 326 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C, 进样量: 5 μ L。

2.2.2 溶液制备

取菊苣酸对照品 16.22 mg, 精密称定, 加 80% 甲醇溶解, 制成质量浓度为 0.032 15 mg/mL 的对照品溶液。精密量取样品 10 mL, 置 20 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 混匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。取蒲公英饮片粉末适量, 超声处理 20 min, 滤过, 取续滤液, 即得饮片供试品溶液。按杀菌止痒洗液处方及工艺制备缺蒲公英的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验: 取 2.2.2 项下 3 种溶液各 5 μ L, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相同保留时间处出现相应色谱峰, 分离效果良好, 分离度均大于 1.5, 且阴性对照无干扰, 表明专属性良好。详见图 2。

线性关系考察: 分别取 2.2.2 项下对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9 μ L, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面

积。以菊苣酸进样量(X , μ g) 为横坐标、峰面积(Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 49.891X - 0.0736$ ($r = 0.9999, n = 5$)。结果表明, 菊苣酸进样量在 0.032 15 ~ 0.289 35 μ g 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取 2.2.2 项下对照品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果的 RSD 为 0.42% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取供试品溶液(批号为 21081701) 适量, 分别于室温放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果的 RSD 为 1.66% ($n = 6$), 表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验: 分别取样品(批号为 21081701) 6 份, 按 2.2.2 项下方法制得供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果菊苣酸平均含量为 0.064 59 mg/mL, RSD 为 1.66% ($n = 6$), 表明方法重复性较好。

加样回收试验: 取已知含量的样品(批号为 21081701) 6 份, 分别加入对照品溶液 5 mL, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 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 1。

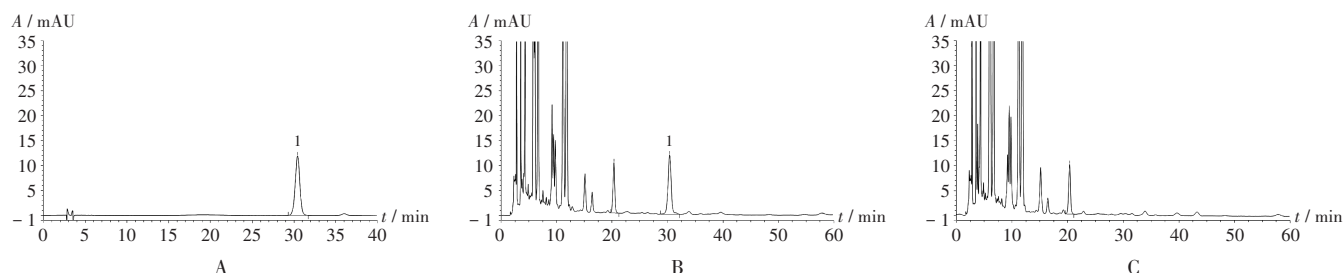
表 1 加样回收试验结果($n = 6$)

Tab. 1 Results of the recovery test($n = 6$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
0.323 0	0.321 5	0.645 2	100.22		
0.323 0	0.321 5	0.630 4	95.61		
0.323 0	0.321 5	0.644 0	99.84	99.04	1.76
0.323 0	0.321 5	0.644 4	99.97		
0.323 0	0.321 5	0.643 6	99.72		
0.323 0	0.321 5	0.640 8	98.85		

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, 再按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。3 批样品中菊苣酸含量分别为 59.65,



1. 菊苣酸

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 2 高效液相色谱图

1. Chicoric acid

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

60.19, 58.87 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 平均 59.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$, RSD 为 1.11%。根据 2020 年版《中国药典(一部)》规定,蒲公英饮片中含菊苣酸($\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$)不得少于 0.30%,故成品含量不得低于 35.79 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。综合考虑,本品质量标准暂定菊苣酸含量不得少于 35.79 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3 讨论

3.1 TLC 鉴别

杀菌止痒洗液由 9 味中药组方,其中败酱草^[11-12]和白及^[13-14]专属性较差,阴性对照有干扰,暂无合适的 TLC 鉴别方法,苍术^[15-17]和冰片^[18-19]的主成分斑点不清晰,原因可能是二者所含主要成分具有挥发性,在制剂生产或样品处理过程中遇高温易挥发。蛇床子、黄柏、地肤子、百部的 TLC 鉴别专属性较好,斑点清晰,故 TLC 中仅对此 4 种成分进行定性鉴别。

在黄柏的 TLC 鉴别中,大多文献^[20-22]样品处理采用加甲醇超声后过滤即得,以正丁醇-冰醋酸-水(6:1:2, $V/V/V$)为展开剂,展开。此法操作简便,但多次重复验证发现,主成分斑点盐酸小檗碱易拖尾,且展开剂的展开时间长达 2 h。预试验中参考文献^[7]样品处理方法采用三氯甲烷萃取,参考龙倩倩等^[6]的研究以乙酸乙酯-甲酸-水(8:1:1, $V/V/V$)为展开剂展开,结果主成分斑点清晰易现,分离效果好,无拖尾现象,且大幅缩短了展开时间。在地肤子 TLC 鉴别时,初始采用水饱和正丁醇萃取样品,结果主成分斑点清晰但背景较脏,分离效果欠佳,这可能与未充分纯化有关,因此改成先用乙酸乙酯提取出脂性成分,弃乙酸乙酯液,水液再用水饱和正丁醇提取,最后用氨试液洗涤,结果主成分斑点清晰且背景干净,分离效果较理想。

3.2 含量测定

指标成分选择:杀菌止痒洗液方中,蒲公英既能清泻火热毒邪,又能治疗热毒疮痍诸证;败酱草清热解毒、消痈排脓、祛瘀止痛,二者共为君药。根据国家药品监督管理局药品审评中心发布的《中药制剂稳定性研究技术指导原则(试行)》^[23]中含量测定项目要求,首选君药进行含量测定。参考 2020 年版《中国药典(一部)》和《安徽省中药饮片炮制规范(2019 年版)》^[24],败酱草无含量测定方法,蒲公英指标性成分为菊苣酸,故选择菊苣酸作为含量测定成分。

色谱条件选择及耐用性考察:本研究中参考 2020 年版《中国药典(一部)》中蒲地蓝消炎口服液中菊苣酸的含量测定方法^[10],并在此基础上进行了优化。预试验中对不同比例流动相[乙腈-0.2%磷酸溶液(16:84, 18:82, 14:86, V/V)]进行考察,结果显示流动相比比例小幅变化时对峰形、理论板数、分离度影响不明显。对不同品牌色谱柱(Hypersil ODS2 柱、Thermo Scientific

Synchronis C_{18} 柱、Welch Zapchrom C_{18} 柱)进行考察,结果 3 种色谱柱的色谱峰面积、理论板数、分离度变化不明显;Thermo Scientific Synchronis C_{18} 柱的柱效较高,分离度及不对称度均符合要求,故选择此柱。预试验中还对不同流速条件(0.9, 1.0, 1.1 mL/min)进行了考察,色谱峰面积、理论板数、分离度变化不明显,故流速选择 1.0 mL/min 。

3.3 方法评价

该研究中建立的方法操作简便,专属性强,结果稳定可靠,可用于杀菌止痒洗液的质量控制。

参考文献

- [1] 孙绍欣,王 信,林 丽,等. 蒲公英研究进展及质量标志物预测分析[J]. 山东中医杂志,2023,42(7):773-780.
- [2] 田 新,李梓欣,战瑞雪,等. 菊苣酸抗氧化及抗炎作用机制研究进展[J]. 中药材,2022,45(2):501-505.
- [3] 王 红,冯 帅,史 磊,等. 菊苣酸的研究进展[J]. 药学研究,2021,40(9):614-619.
- [4] 柳克浩,秦丽华. 平痒洗剂质量标准研究[J]. 亚太传统医药,2017,13(4):23-26.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:1887.
- [6] 龙倩倩,赵小勤,代 琪,等. 黄柏质量标准示范性研究[J]. 亚太传统医药,2022,18(2):80-85.
- [7] 肖丽丽,潘 磊. 十味止痒洗剂的质量标准研究[J]. 药物研究,2020,17(21):13-15.
- [8] 张亚中,袁 杰,班永生,等. 蔓生百部质量标准研究[J]. 药物分析杂志,2014,34(10):1856-1860.
- [9] 景 霞,许 静,湛 雯,等. 呼吸通口服液的质量标准提高研究[J]. 中国药房,2016,27(36):5137-5139.
- [10] 唐传禹,李 妍. RP-HPLC 法测定消炎退热颗粒中菊苣酸的含量[J]. 北方药学,2023,20(6):5-7.
- [11] 陈惠玲,曾荣洁. 妇炎消胶囊质量标准的研究[J]. 中国药品标准,2014,15(4):272-275.
- [12] 罗文汇,胥爱丽,毕晓黎,等. 柴白妇乐颗粒质量标准的研究[J]. 中国实用医药,2009,4(30):17-18.
- [13] 翟 欣,庞克坚,唐 辉,等. 伊木萨克片定性定量研究[J]. 药物分析杂志,2018,38(6):1066-1075.
- [14] 章怀奋,王 杰,黄 松,等. 复方四黄栓的定性定量方法研究[J]. 中南药学,2012,10(12):915-918.
- [15] 隋继英,刘向红,陈金娜,等. 化痰无糖颗粒的质量标准研究[J]. 中国药房,2018,29(22):3083-3088.
- [16] 葛少波,刘 婕,张 杰,等. 爽肤洗液的定性鉴别研究[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(62):212-213.
- [17] 黄志端,吴 敏,魏茂陈. 治带片中 4 种药物的薄层鉴别[J]. 智慧健康,2018,4(36):7-9.
- [18] 聂黎行,查祎凡,胡晓茹,等. 基于对照制剂的牛黄清胃丸全处方鉴别研究和等级初评价[J]. 中草药,2018,49(22):5320-5327.