

中图分类号: R917; R927; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)20-0066-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.20.014



苦参康肤乳膏质量标准研究*

莫国栋¹, 林 丽¹, 曾维国¹, 李添朋¹, 杨 瑾^{2△}

(1. 广东省中山市第二人民医院, 广东 中山 528447; 2. 广东省中山市第三人民医院, 广东 中山 528400)

摘要:目的 建立苦参康肤乳膏的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对苦参、蛇床子进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定苦参碱、蛇床子素的含量,色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相苦参碱为乙腈-0.1%磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 8.0, 20:80, V/V)、蛇床子素为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 220 nm(苦参碱)、322 nm(蛇床子素),柱温为 30℃,进样量为 10 μL。结果 苦参、蛇床子 TLC 图专属性强,斑点清晰,且阴性对照无干扰。苦参碱、蛇床子素质量浓度分别在 0~883.03 μg/mL、0~139.67 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($R^2 = 0.999\ 8, n = 6$; $R^2 = 1.000\ 0, n = 6$);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 99.82%, 102.33%, RSD 分别为 1.12%, 2.68%($n = 9$)。3 批样品中苦参碱和蛇床子素的平均含量分别为 0.43 mg/g, 0.11 mg/g。结论 本研究所建方法专属性强、灵敏度高,操作简单,结果稳定可靠,可用于苦参康肤乳膏的质量控制。

关键词:苦参康肤乳膏;高效液相色谱法;薄层色谱法;含量测定;质量标准

Study on the Quality Standard of Kushen Kangfu Cream

MO Guodong¹, LIN Li¹, ZENG Weiguo¹, LI Tianpeng¹, YANG Jin²

(1. Zhongshan Second People's Hospital, Zhongshan, Guangdong, China 528447; 2. Zhongshan Third People's Hospital, Zhongshan, Guangdong, China 528400)

Abstract: Objective To establish the quality standard of Kushen Kangfu Cream. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) method was used to qualitatively identify Sophorae Flavescentis Radix and Cnidii Fructus; high-performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the contents of matrine and osthole. The chromatographic column was ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase of osthole was acetonitrile-0.1% phosphoric acid (adjust pH to 8.0 with triethylamine, 20:80, V/V), of matrine was acetonitrile-0.1% phosphoric acid, (gradient elution); the flow rate was 0.8 mL/min, the detection wavelength were 220 nm (matrine) and 322 nm (osthole) the column temperature was 30℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** TLC chromatograms of Sophorae Flavescentis Radix and Cnidii Fructus, showed strong specificity with clear spots, and there were no interference from the negative reference. The linear ranges of matrine and osthole were 0-883.03 mg/mL and 0-139.67 mg/mL ($R^2 = 0.999\ 8, n = 6$; $R^2 = 1.000\ 0, n = 6$), respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0% ($n = 6$). The average recoveries of matrine and osthole were 99.82% and 102.33%, with RSDs of 1.12% and 2.68% ($n = 9$), respectively. The average contents of matrine and osthole in three batches of samples were 0.43 mg/g and 0.11 mg/g, respectively. **Conclusion** The method established in this study has strong specificity, high sensitivity, simple operation and stable and reliable results, which can be used for the quality control of Kushen Kangfu Cream.

Key words: Kushen Kangfu Cream; HPLC; TLC; content determination; quality control

苦参康肤洗剂为中山市第二人民医院院内制剂(批号为粤药制字 Z20070402),由苦参、蛇床子、地肤子、白鲜皮等 8 味中药组方,苦参康肤乳膏为该方新剂型,具有清热解毒、燥湿止痒、消炎杀虫的功效,主要用于治疗湿疹、皮肤瘙痒、皮炎等^[1-6],疗效确切。现代研究表明,苦参药材的化学成分包括生物碱类、黄酮类、三萜皂苷类等,具有抗菌、降血糖、调血脂、抗炎、抗氧

化等作用^[7-9],苦参碱是苦参的主要活性成分,广泛应用于湿疹、特应性皮炎、银屑病、牛皮癣等皮肤疾病的治疗^[10-11]。蛇床子药材的化学成分主要包括香豆素类、黄酮类和挥发油类,有抗肿瘤、抗菌消炎、抗骨质疏松、镇静安神等作用^[12-13],蛇床子素是蛇床子主要活性成分,具有抗炎、抗氧化、抗菌止痒作用^[14-15]。目前苦参康肤乳膏缺乏系统性的质量标准考察,为保障制

*基金项目:中国医药教育协会药事管理模式创新与药物临床综合评价研究专项课题[2023YSGLZXKT-02]。

第一作者:莫国栋,男,硕士,主任药师,研究方向为医院药学、临床药物依赖、医院制剂研发,(电子信箱)moguo2002@163.com。

△通信作者:杨瑾,女,硕士,主任药师,研究方向为医院药学、临床药学、医院制剂研发,(电子信箱)yangjin1209@163.com。

剂的临床疗效, 本研究中建立了其定性鉴别及定量测定方法。现报道如下。

1 材料

1.1 仪器

1260 型高效液相色谱(HPLC)仪(安捷伦科技 < 中国 > 有限公司), BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司, 精度为 0.01 mg), AS20500A 型超声机、AT-330 型色谱柱恒温箱(天津奥特赛恩斯仪器有限公司), 101-2A 型数显式电热恒干燥箱(上海沪越实验仪器有限公司); RE52C 型旋转蒸发器、B-0220 型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂); SHZ-D(Ⅲ)型循环水式多用真空泵(河南省予华仪器有限公司); 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工有限公司, 批号为 20240602), 2% 氢氧化钠硅胶 G 薄层板(青岛基亿达硅胶试剂有限公司, 批号为 20220519), 规格均为 100 mm × 100 mm。

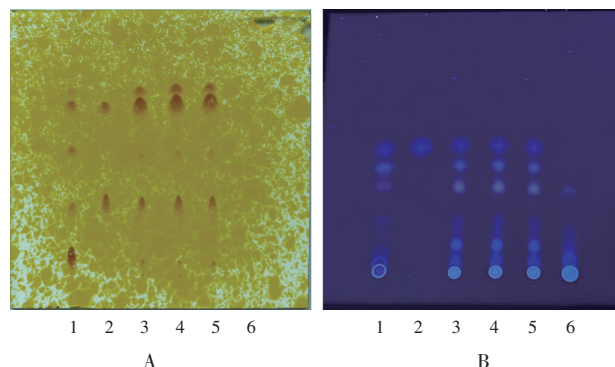
1.2 试药

苦参碱对照品(批号为 110805-202411, 含量 99.2%), 槐定碱对照品(批号为 110784-201706, 含量 98.8%), 蛇床子素对照品(批号为 110822-202412, 含量 99.9%), 苦参对照药材(批号为 121019-201708), 蛇床子对照药材(批号为 121030-201808), 均购自中国食品药品检定研究院; 苦参康肤乳膏(批号为 20240728, 20240729, 20240730), 苦参阴性乳膏(批号为 20240805), 蛇床子阴性乳膏(批号为 20240806), 均为中山市第二人民医院制剂室自制; 磷酸、乙腈均为色谱级; 甲醇、氯仿、甲苯、乙酸乙酯、无水乙醇、三乙胺均为分析纯; 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱(TLC)鉴别^[16]

苦参: 取 3 批样品各 10 g, 加水 30 mL, 搅拌溶解, 加浓氨试液调 pH 至 12, 加三氯甲烷振摇提取 2 次, 每次 30 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 溶解, 即得供试品溶液; 取苦参对照药材 0.5 g, 加水 40 mL, 煎煮 30 min, 放冷, 滤过, 取滤液, 按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液; 取苦参碱对照品、槐定碱对照品, 加三氯甲烷制成每 1 mL 各含 1 mg 的对照品溶液^[17]; 取苦参阴性样品 10 g, 精密称定, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法, 吸取上述 4 种溶液各 5 μ L, 分别点于 2% 氢氧化钠硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-丙酮-甲醇(8:3:0.5, V/V/V) 为展开剂, 在展开缸另一侧加入氨试液 2 mL, 预饱和 15 min, 展开, 取出, 晾干, 再以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-水(2:4:2:1, V/V/V/V) 10 $^{\circ}$ C 以下放置的上层溶液为展开剂, 预饱和 15 min, 展开, 晾干, 分别喷以碘化铋钾试液和亚硝酸钠乙醇试



1. 对照药材溶液 2. 对照品溶液 3-5. 供试品溶液
6. 阴性对照品溶液
A. 苦参 B. 蛇床子

图 1 薄层色谱图

1. Reference medicinal materials solution 2. Reference solution
3-5. Test solution 6. Negative reference solution
A. Sophorae Flavescentis Radix B. Cnidii Fructus

Fig. 1 TLC chromatograms

液, 立即检视。供试品溶液色谱中, 在与对照药材溶液色谱和对照品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点, 且阴性对照无干扰。见图 1 A。

蛇床子: 取 3 批样品各 10 g, 加水 30 mL, 搅拌使溶解, 加乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 30 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解, 即得供试品溶液; 取蛇床子对照药材 0.6 g, 加水 40 mL, 煎煮 30 min, 室温冷却, 滤过, 取滤液, 按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液; 取蛇床子素对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液; 取蛇床子阴性样品 10 g, 精密称定, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法, 吸取上述 4 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯(15:1, V/V) 为展开剂, 预饱和 15 min, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应位置显相同颜色斑点, 且阴性对照无干扰。见图 1 B。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 苦参碱为乙腈-0.1% 磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 8.0, 20:80, V/V), 蛇床子素为乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱(0~30 min 时 20%A → 80%A, 30~35 min 时 80%A → 20%A, 35~40 min 时 20%A → 20%A); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 220 nm(苦参碱), 322 nm(蛇床子素); 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。

2.2.2 溶液制备

对照品溶液: 取苦参碱对照品约 21 mg, 精密称定,

置25 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得苦参碱对照品贮备液,取适量,加甲醇制成每1 mL约含833.03 μg 的苦参碱对照品溶液;取蛇床子素对照品约14 mg,置50 mL容量瓶中,加无水乙醇溶解并定容,摇匀,即得蛇床子素对照品贮备液,取适量,加甲醇制成每1 mL约含279.32 μg 的蛇床子素对照品溶液。

供试品溶液:取样品2 g,精密称定,加水25 mL,搅拌溶解,氨试液调pH至9.3,乙酸乙酯萃取3次,每次40 mL,回收萃取液,残渣加甲醇溶解并定容至10 mL,即得苦参供试品溶液;取样品5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加60%乙醇25 mL,称定质量,水浴使溶解,超声(功率500 W,频率40 kHz)15 min,放冷,再次称定质量,60%乙醇补足减失的质量,摇匀,取上清液,即得蛇床子供试品溶液。

阴性对照品溶液:分别取苦参阴性样品和蛇床子阴性样品各10 g,按供试品溶液制备方法分别制备缺苦参和缺蛇床子的阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:分别精密量取2.2.2项下苦参和蛇床子的3种溶液适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果苦参和蛇床子供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相同保留时间处均有相应色谱峰出现,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。见图2。

线性关系考察:取2.2.2项下苦参碱对照品贮备液0.5,1,2,3,2.5,10 mL分别加流动相至10,10,10,10,5,10 mL稀释,即得苦参碱系列标准溶液;取2.2.2项下

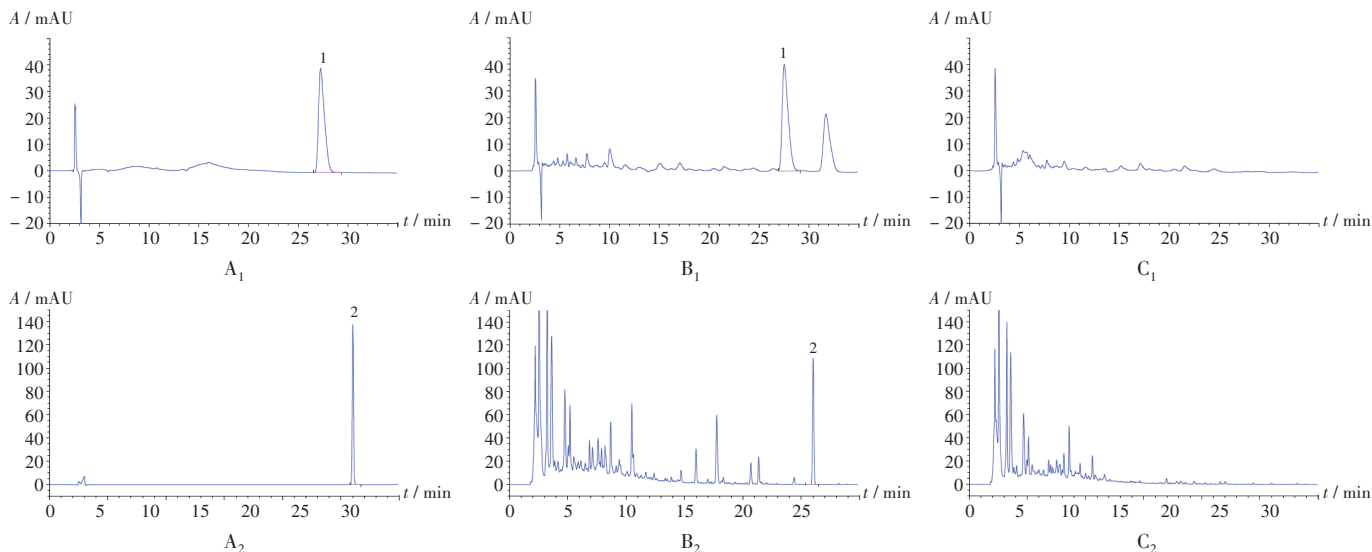
蛇床子素对照品贮备液1,1,4,4,8,5 mL分别加流动相至50,25,50,25,25,10 mL稀释,即得蛇床子素系列标准溶液。按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱。以待测成分质量浓度(X , $\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得到回归方程苦参碱 $Y_1 = 9.5715X_1 + 71.863$ ($R^2 = 0.9988, n = 6$),蛇床子素 $Y_2 = 38.274X_2 - 2.2483$ ($R^2 = 1.0000, n = 6$)。结果表明,苦参碱、蛇床子素质量浓度分别在0~883.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0~139.67 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好^[18]。

精密度试验:取2.2.2项下2种对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果苦参碱和蛇床子素峰面积的RSD分别为0.63%和0.23% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下供试品溶液(批号为20240728)适量,分别于室温下放置0,2,4,6,12,24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果苦参碱和蛇床子素峰面积的RSD分别为1.97%和0.12% ($n = 6$),表明供试品溶液室温放置24 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批样品(批号为20240728)6份,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,并计算样品含量。结果苦参碱和蛇床子素含量的RSD分别为1.19%和1.34% ($n = 6$),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20240728),精密称定,各9份,每份2 g,按供试品中苦参碱和蛇床子素含量80%,100%,120%加入2种对照



1. 苦参碱 2. 蛇床子素

A₁, A₂. 对照品溶液 B₁, B₂. 供试品溶液 C₁, C₂. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. Matrine 2. Osthole

A₁, A₂. Reference solution B₁, B₂. Test solution C₁, C₂. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms

表 1 加样回收试验结果($n = 9$)
Tab. 1 Results of the recovery test($n = 9$)

取样量 (g)	样品含量(μg)		加入量(μg)		测得量(μg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
	苦参碱	蛇床子素	苦参碱	蛇床子素	苦参碱	蛇床子素	苦参碱	蛇床子素	苦参碱	蛇床子素	苦参碱	蛇床子素
2.005 6	891.64	229.15	695.31	178.77	1 579.68	413.90	98.95	103.35				
2.001 2	835.46	227.71	695.31	178.77	1 529.49	403.58	99.81	98.38				
2.002 3	872.42	225.65	695.31	178.77	1 577.53	404.78	101.41	100.20				
1.999 7	870.54	223.61	869.14	223.46	1 739.68	453.11	100.00	102.70				
2.003 4	859.88	219.30	869.14	223.46	1 720.04	451.78	98.97	104.04	99.82	102.33	1.12	2.68
1.998 9	859.78	221.49	869.14	223.46	1 727.25	440.81	99.81	98.15				
2.004 8	848.29	210.26	1 062.28	279.32	1 902.67	501.68	99.26	104.33				
2.002 6	859.05	214.23	1 062.28	279.32	1 904.55	509.24	98.42	105.62				
2.001 8	879.00	213.97	1 062.28	279.32	1 959.92	505.03	101.75	104.20				

品,每个质量浓度各 3 份。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 1。

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,按 2.2.1 项下色谱条件测定,记录峰面积并计算含量。结果 3 批样品中苦参碱的含量分别为 0.43 mg/g, 0.44 mg/g, 0.43 mg/g, 平均含量为 0.43 mg/g, RSD 为 1.33%;蛇床子素的含量分别为 0.11 mg/g, 0.11 mg/g, 0.11 mg/g, 平均含量为 0.11 mg/g, RSD 为 1.79%。

3 讨论

3.1 TLC 条件优选

预试验中依据 2020 年版《中国药典(一部)》^{[19]211-212} 中苦参鉴别项下的 TLC 条件,对苦参康肤乳膏中的苦参进行 TLC 鉴别研究。发现 TLC 色谱中苦参碱、槐定碱以及苦参特征斑点易出现拖尾现象,由于苦参碱呈碱性,参考文献[20],在薄层层析缸另一侧加入 2 mL 氨试液进行预饱和后展开,苦参的特征斑点拖尾情况有所改善,分离度良好。依据 2020 年版《中国药典(一部)》中蛇床子鉴别项下 TLC 的展开剂的种类及比例^{[19]328-329},进行优化后减少了正己烷使用,选择甲苯-乙酸乙酯(15:1, V/V)为展开剂展开,并置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品溶液、对照品溶液,对照药材溶液的薄层鉴别中特征斑点圆整,分离度好。故本研究中选择优化后条件为 TLC 条件。

3.2 HPLC 条件优选

预试验结果显示,乙酸乙酯和氯仿的萃取效果相当,而氯仿易发生乳化反应,且毒性较大,因此最终采用乙酸乙酯萃取。苦参碱含量测定的流动相分别考察了 2020 年版《中国药典(一部)》中复方苦参肠炎康片流动相甲醇-磷酸盐缓冲溶液(磷酸二氢钾 3.402 g 溶解于 1 000 mL 水中,用磷酸调节 pH 至 3.0)(7:93, V/V)^{[19]1325-1326},消银片

和消银颗粒流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 8.0)(20:80, V/V)^{[19]1542-1544},喉疾灵胶囊流动相乙腈-0.05% 磷酸溶液(三乙胺调节 pH 至 7.0)(20:80, V/V)^{[19]1728-1729},津力达颗粒流动相乙腈-无水乙醇-2% 磷酸(84:7:9, V/V/V)^{[19]1402-1403},发现以乙腈-0.1% 磷酸溶液(三乙胺调节 pH 至 8.0)(20:80, V/V)为流动相洗脱时,苦参碱的峰形、分离度及理论板数最优,最终确定以此为流动相。蛇床子素含量测定参考 2020 年版《中国药典(一部)》^{[19]328-329} 中蛇床子含量项下乙腈-水为流动相进行梯度洗脱,发现蛇床子阴性有干扰,优化流动相为乙腈-0.1% 磷酸梯度洗脱时,蛇床子素分离效果较好,理论板数及峰形均较理想,阴性对照无干扰,最终确定以此为流动相。

3.3 方法评价

本研究中建立的方法专属性强,灵敏度高,操作简便,结果稳定可靠,可用于苦参康肤乳膏的质量控制。

参考文献

[1] 高维明,赵悦新,王 森,等. 苦参康复搽剂的气相指纹图谱研究[J]. 沈阳药科大学学报,2019,36(5):394-398.
[2] 韩 雪,柴金苗,李钦青,等. 蛇床子搽剂的质量标准研究[J]. 中国药房,2018,29(9):1245-1248.
[3] 高世东. 苦参中 5 个成分的含量测定[J]. 中药材,2022,45(6):1428-1431.
[4] 翟艳会,吉红玉,朱向东,等. 地肤子的临床应用及其用量探究[J]. 长春中医药大学学报,2022,38(9):960-963.
[5] 郭会霞,王 涵. 苦参、白鲜皮、地肤子治疗糖尿病合并皮肤瘙痒经验——仝小林三味方小撷萃[J]. 吉林中医药,2020,40(9):1128-1130.
[6] 姜京京,吕江维,杨 硕,等. 白鲜皮-地肤子药对醇质体的制备及处方优化[J]. 医药导报,2025,44(4):639-647.
[7] 马雪宁,杨素清,张君成,等. 苦参药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2023,25(1):152-156.
[8] 杨守研,刘瑛琦. 苦参的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药物滥用防治杂志,2024,30(1):80-83.