[3] 谢贞建,焦士蓉,李 恺,等. RP-HPLC 法测定不同产地枳实中的柚皮苷、橙皮苷及新橙皮苷[J]. 西华大学学报:自然科学版,2009,28(2):65-67.
[4] 郭丽红,郑国钧,苗爱东,等. 高效液相色谱法测定解表清肺丸中柚皮苷、橙皮苷、黄芩苷的含量[J]. 药物分析杂志,2009,29(9):1493-1495.
[5] 中国药典[S]. 一部. 2010:229.

芙蓉凝胶质量标准研究

曾祖平, 刘 钊*, 张 虎**, 何 薇, 王 宏, 王永红
(首都医科大学附属北京中医医院北京市中医研究所,北京 100010)

关键词:芙蓉凝胶; TLC; 黄芩苷; 盐酸小檗碱; 盐酸巴马汀; HPLC
摘要:目的:建立芙蓉凝胶(黄连、黄芩、大黄等)质量标准。方法:采用薄层色谱法鉴别黄连、关黄柏、黄芩、大黄、泽兰;采用 HPLC 法同时测定盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和黄芩苷的含量。结果:薄层斑点清晰,阴性对照无干扰;HPLC 分析条件为色谱柱:Kromasil 100-5C_{18}(150 mm×4.6 mm);流动相:乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾-三乙胺(25∶75∶0.2);检测波长:276 nm(黄芩苷),265 nm(盐酸巴马汀、盐酸小檗碱);盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和黄芩苷有良好的线性关系,平均回收率分别为 101.23%、100.49% 和 101.49%。结论:方法可行,结果可靠,可作为本品质量控制方法。
中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1001-1528(2010)12-2091-05

Quality standard for Furong Gel

ZENG Zu-ping, LIU Zhao*, ZHANG Hu**, HE Wei, WANG Hong, WANG Yong-hong
(*Beijing Institute of TCM, Beijing Hospital of TCM Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100010, China*)

KEY WORDS: Furong Gel; TLC; berberine hydrochloride; palmatin hydrochloride; baicalin; HPLC
ABSTRACT: AIM: To establish the quality standard of Furong Gel (*Rhizoma Coptidis*, *Radix Scutellariae*, *Radix et Rhizoma Rhei*, etc.). **METHODS:** *Rhizoma Coptidis*, *Cortex Phellodendri Amurensis*, *Radix Scutellariae*, *Radix et Rhizoma Rhei*, *Herba Lycopi* were identified by TLC. The contents of berberine hydrochloride, palmatin hydrochloride and baicalin were determined simultaneously by HPLC. **RESULTS:** The TLC spots were clear, and the blank test showed no interference. The condition of HPLC was C_{18} column, ACN-0.05 mol/L KH_2PO_4 as mobile phase, 276 nm and 265 nm as detection wavelength. The linearities of berberine hydrochloride, palmatin hydrochloride and baicalin were good, and the average recoveries were 101.23%, 100.49% and 101.49%, respectively. **CONCLUSION:** The method is reliable and accurate, and can be applied as the quantity control method of Furong Gel.

芙蓉膏为北京中医医院皮外科常用的传统软膏剂,由黄连、黄芩、大黄等药味组成,具有清热解毒,活血消肿的功效,主治丹毒、蜂窝组织炎、疖、痈初起等[1]。原制剂为药材粉碎后直接加入凡士林基质中,药材有效成分利用度低,软膏油腻,易污染衣物。为提高其临床疗效,便于使用,我们将芙蓉膏改进为凝胶剂,对其工艺进行了研究[2]。本实验建立了芙蓉凝胶的质量标准。

1 材料和仪器

芙蓉凝胶(自制);芙蓉凝胶药材饮片(北京杏

收稿日期:2010-06-22
基金项目:北京市中医药科技项目(JJ 2003-16)
作者简介:曾祖平(1963-),女,副主任药师,从事中药制剂研究及中药成分分析。Tel:(010)52176919 E-mail:zzp600@sohu.com
* 刘 钊,首都医科大学中医药学院 2004 级本科生
** 张 虎,哈尔滨医科大学 2005 级本科生

林药业有限责任公司)；盐酸小檗碱对照品(批号110713-200208，含量测定用)、黄芩苷对照品(批号110715-200514，含量测定用)、盐酸巴马汀对照品(批号：110732-200907，按盐酸巴马汀为 86.1% 计，供含量测定用)、大黄素(批号 756-9707)、大黄素甲醚(批号 758-9301)、大黄酸(批号 0757-200206)、大黄酚(批号 796-9303)、芦荟大黄素(批号 795-9301)、熊果酸(批号 110742-200516)、汉黄芩素(1514-200202)、掌叶大黄对照药材、黄连对照药材、关黄柏对照药材、黄芩对照药材均购自中国药品生物制品检定所；水为重蒸水；甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯，硅藻土为化学纯，其余试剂为分析纯；滤膜(孔径 0.45 μm，德国 MEMBRANA 公司)。

1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司，包括二元泵、自动进样器、多波长检测器)，AJ150L 电子精密天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)，SK7210HP 型 KUDOS 超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司)，SNB-2 型数字旋转黏度计(上海地学仪器研究所)，JC402PH/Mv 智能式数字显示酸度计(北京创业仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 性状 本品为棕黄色稠厚液体。

2.2 鉴别

2.2.1 泽兰的薄层色谱鉴别[药典157] 取本品 5 g，加硅藻土 5 g 分散，晾干，加入乙醚 30 mL，超声 10 min，滤过；滤渣备用；滤液挥去溶剂，残渣用甲醇 1 mL 溶解，作为供试品溶液。按处方配比称取除泽兰以外的其它药材，按芙蓉凝胶制备方法制备凝胶，并按供试品溶液的制备方法制备泽兰阴性对照液。另取熊果酸对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液，作为对照品溶液。照《中国药典》2005 年版一部附录Ⅵ B 薄层色谱法试验，吸取供试品溶液和阴性对照溶液各 20 μL、对照品溶液 2 μL，分别点于同一含 0.3% 羧甲基纤维素钠的硅胶 G 板上，以环己烷-丙酮-乙酸乙酯(5∶2∶1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应位置上，显相同紫红色斑点；365 nm 下显相同橙黄色荧光斑点，阴性对照无干扰，见图 1。

2.2.2 大黄的薄层色谱鉴别[药典17] 供试品溶液制备同 2.2.1 项；同 2.2.1 项中方法制备大黄阴性对照液。另取掌叶大黄对照药材粉末 0.1 g，加甲醇 20 mL，浸泡 1 h，滤过，取滤液 5 mL，蒸干，残渣加水 10 mL 使溶解，再加盐酸 1 mL，加热回流 30 min，立即冷却，用乙醚萃取 2 次，每次 20 mL，合并乙醚液，蒸干，残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解，作为对照药材溶液。再取芦荟大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚和大黄素对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液；再吸取上述对照品溶液各 1 mL，混匀，作为对照品溶液。照《中国药典》2005 年版一部附录Ⅵ B 薄层色谱法试验，吸取供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL、对照药材和对照品溶液各 5 μL，分别点于同一含 0.3% 羧甲基纤维素钠的硅胶 H 板上，以石油醚(30 ~ 60 ℃)-甲酸乙酯-甲酸(15∶5∶1)为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱中，在与对照药材和对照品色谱相应位置上，显相同 5 个橙黄色荧光斑点；置氨蒸气熏后，斑点变为红色，阴性对照无干扰，见图 2。

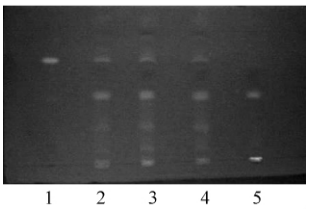

图 1 泽兰的薄层色谱图

Fig. 1 TLC of *Herba Lycopi*

1. 熊果酸对照品 2-4. 3 批凝胶样品 5. 泽兰阴性对照

1. ursolic acid 2-4. samples 5. blank of *Herba Lycopl*

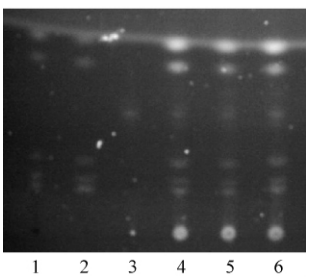

图 2 大黄的薄层色谱图

Fig. 2 TLC of *Radix et Rhizoma Rhei*

1. 掌叶大黄对照药材 2. 5 种对照品混合液

3. 阴性对照 4 - 6. 3 批供试品

1. medicinal materials of rheum palmatum 2. mixed reference substances

3. blank of *Radix et Rhizoma Rhei* 4-6. samples

2.2.3 黄连、关黄柏的薄层色谱鉴别[药] 2.2.1 项中乙醚提取后的滤渣挥尽溶剂，加乙酸乙酯-甲醇(3∶1)50 mL，超声 30 min，滤过，滤液蒸干，残渣用甲醇 1 mL 溶解，作为供试品溶液。按处方配比称取除黄连、关黄柏药材以外的其它药材，按芙蓉凝胶制备方法制备凝胶，并按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。另取黄连对照药材、关黄柏对照药材各 0.1 g，分别加甲醇 10 mL，超声处理 20 min，滤

过，作为对照药材溶液。再取盐酸巴马汀、盐酸小檗碱对照品，分别加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液，作为对照品溶液。再取上述两种对照品溶液等比例混合，作为混合对照品溶液。照《中国药典》2005 年版一部附录ⅥB 薄层色谱法试验，吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 5 μL、对照药材溶液、对照品溶液和混合对照品溶液各 1μL，分别点于同一含 0.3% 羧甲基纤维素钠的硅胶 G 薄层板上，以环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水-三乙胺(3∶3.5∶1∶1.5∶0.5∶1)为展开剂，加入展开箱一侧槽中，另侧槽加入与展开剂等体积的浓氨试液共同预平衡 20 min，展开，取出，晾干，置紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱中，在与对照药材和对照品色谱相应位置上，显相同黄色荧光斑点，阴性对照无干扰，见图 3。

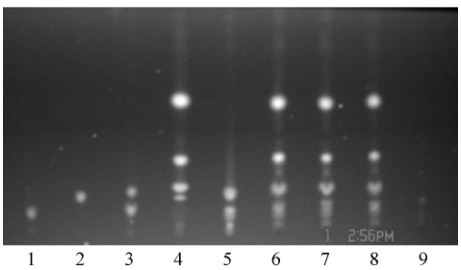

图 3 黄连、关黄柏的薄层色谱图

Fig. 3 TLC of *Rhizoma Coptidis* and *Cortex Phellodendri* Amurensis

1. 盐酸巴马汀 2. 盐酸小檗碱 3. 盐酸巴马汀 + 盐酸小檗碱 4. 黄连药材 5. 关黄柏药材 6 - 8.3 批供试品 9. 阴性对照

1. palmatine hydrochloride 2. berberine hydrochloride 3. palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride 4. medicinal materials of *Rhizoma Coptidis* 5. medicinal materials of *Cortex Phellodendri Amurensis* 6-8. samples 9. blanks of *Rhizoma Coptidis* and *Cortex Phellodendri Amurensis*

2.2.4 **黄芩的薄层色谱鉴别** 供试品溶液制备同 2.2.1 项。同 2.2.1 项中方法制备黄芩阴性对照液。另取黄芩对照药材 0.1 g，加乙酸乙酯-甲醇(3∶1)4 mL，浸泡 1 h，超声处理 30 min，滤过，蒸干，残渣用甲醇 1 mL 溶解，作为对照药材溶液。照《中国药典》2005 年版一部附录ⅥB 薄层色谱法试验，再取汉黄芩素对照品，分别加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。吸取供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL、对照药材和对照品溶液各 2 μL，分别点于同一含 0.3% 羧甲基纤维素钠的硅胶 G 板上，以甲苯-甲酸乙酯-甲酸(15∶5∶1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 3% 三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中，在与对照药材和对照品色谱相应位置上，有相同的暗绿色斑点，阴性对照无干扰，见图 4。

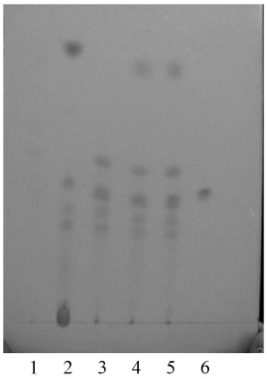

图 4 黄芩的薄层色谱图

Fig. 4 TLC of *Radix Scutellariae*

1. 黄芩阴性 2. 黄芩对照药材 3 - 5.3 批凝胶样品 6. 汉黄芩素

1. blank of *Radix Scutellariae* 2. medicinal materials of *Radix Scutellariae* 3-5. samples 6. wogonin

2.3 **检查**

2.3.1 **pH 值** 取本品 1 g，称定，加蒸馏水 10 mL 使溶解，照《中国药典》2005 年版一部附录ⅧG pH 值测定法试验，pH 值为 5.50 ~ 6.50。

2.3.2 **黏度** 照《中国药典》2005 年版二部附录ⅥG 黏度测定法中第二法测定，动力黏度为 8 500 ~ 12 500 mPa·s。

2.4 **含量测定**

2.4.1 **色谱条件** 色谱柱：Kromasil 100-5C_{18}(150 mm × 4.6 mm)；流动相：乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾-三乙胺(25∶75∶0.2)；流速：1.0 mL/min；检测波长：276 nm(黄芩苷)，265 nm(盐酸巴马汀、盐酸小檗碱)；柱温：室温；理论板数按黄芩苷峰计算不低于 2 500，按盐酸巴马汀计算不低于 4 000，按盐酸小檗碱计算不低于 3 000。

2.4.2 **对照品溶液的制备及线性关系** 精密称取已干燥(60 ℃ 减压干燥 4 h)的黄芩苷对照品 0.012 6 g，用甲醇定容于 10 mL 量瓶中，制成浓度为 1.26 mg/mL 的黄芩苷对照品贮备液；分别精密称取已干燥(100 ℃ 干燥 5 h)的盐酸巴马汀对照品 0.010 0 g、盐酸小檗碱对照品 0.013 0 g，用甲醇分别定容于 25 mL 量瓶中，分别制成浓度为 0.344 4 mg/mL 的盐酸巴马汀对照品贮备液和 0.52 mg/mL 的盐酸小檗碱对照品贮备液。精密吸取上述黄芩苷对照品贮备液 2 mL、盐酸巴马汀对照品贮备液 3 mL 和盐酸小檗碱对照品贮备液 5 mL 于同一 10 mL 量瓶中，制成黄芩苷(0.252 mg/mL)、盐酸巴马汀

(0.103 3 mg/mL)和盐酸小檗碱(0.26 mg/mL)混合对照品溶液。分别进样 0.2、0.5、1、2、4 μL,按上述色谱条件测定,记录黄芩苷(276 nm)和盐酸巴马汀、盐酸小檗碱(265 nm)峰面积,分别以黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱峰面积积分值(Y)为纵坐标,以进样质量为横坐标(X),进行线性回归,回归方程分别为黄芩苷:$Y = 3\ 562.3X + 10.646$($r = 0.999\ 7$),盐酸巴马汀:$Y = 4\ 114.3X + 52.091$($r = 0.999\ 6$),盐酸小檗碱:$Y = 4\ 607.6X - 76.822$($r = 0.999\ 8$),表明黄芩苷在0.050 4 ~ 1.008 μg 范围、盐酸巴马汀在0.020 7 ~ 0.413 3 μg 范围、盐酸小檗碱在 0.052 ~ 1.04 μg 范围内呈良好的线性关系。色谱图见图 5。

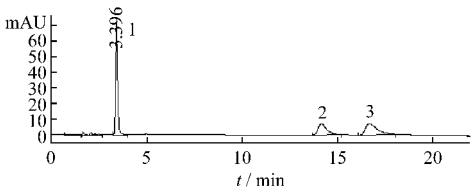

图 5 黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱标准品 HPLC 图谱

Fig. 5 HPLC of berberine hydrochloride, palmatin hydrochloride and baicalin

1. 黄芩苷 2. 盐酸巴马汀 3. 盐酸小檗碱

1. baicalin 2. palmatin hydrochloride 3. berberine hydrochloride

2.4.3 供试品溶液制备 取芙蓉凝胶约 2 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密称取等量硅藻土于同一锥形瓶中,将二者混合分散均匀;取混合物约 0.4 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入流动相 10 mL,称定重量,超声处理 40 min,取出,放冷,再称定重量,用流动相补足减失的重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)过滤,取续滤液作为供试品溶液。

2.4.4 方法学考察

2.4.4.1 稳定性试验:取凝胶的同一供试品溶液,每隔 1 h 左右进样测定 1 次,连续测定 6 个小时,结果黄芩苷 RSD = 1.09%,盐酸巴马汀 RSD = 1.35%,盐酸小檗碱 RSD = 1.40%,表明 6 h 内黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱基本稳定。

2.4.4.2 精密度试验:同一供试品溶液,连续进样 5 次,记录黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的峰面积,计算黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱峰面积 RSD 分别为 0.53%、0.42% 和 0.44%($n = 5$),表明仪器精密度符合要求。

2.4.4.3 专属性试验:按处方比例分别制备不含黄连、黄柏的凝胶和不含黄芩的凝胶,照 2.4.3 项方法制备黄连、黄柏和黄芩的阴性对照溶液,测定,结果显示在与黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱保留时间相应的位置上未见相关吸收峰,说明本品中其他成分对黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的测定无干扰。色谱图见图 6,7。

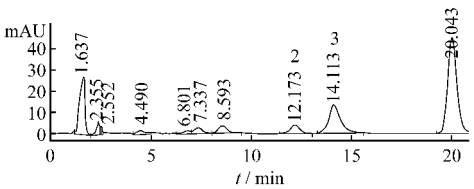

图 6 黄芩阴性 HPLC 图谱

Fig. 6 HPLC of blank of *Radix Scutellariae*

2. 盐酸巴马汀 3. 盐酸小檗碱

2. palmatin hydrochloride 3. berberine hydrochloride

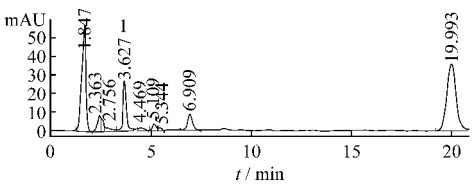

图 7 黄连、关黄柏阴性 HPLC 图谱

Fig. 7 HPLC of blanks of *Rhizoma Coptidis* and *Cortex Phellodendri Amurensis*

1. 黄芩苷 1. baicalin

2.4.4.4 重复性试验:取同一批芙蓉凝胶,共 6 份,按 2.4.3 项方法制备供试品溶液,按 2.4.1 项色谱条件进行测定。结果芙蓉凝胶中黄芩苷含量 RSD = 1.14%($n = 6$),盐酸巴马汀含量 RSD = 1.37%($n = 6$),盐酸小檗碱含量 RSD = 1.57%($n = 6$),表明方法重复性良好。色谱图见图 8。

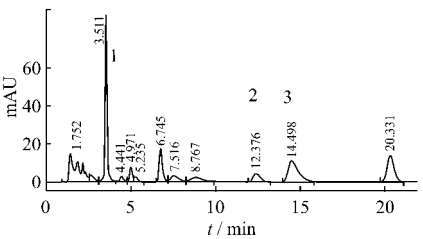

图 8 芙蓉凝胶样品 HPLC 图谱

Fig. 8 HPLC of sample of *Furong Gel*

1. 黄芩苷 2. 盐酸巴马汀 3. 盐酸小檗碱

1. baicalin 2. palmatin hydrochloride 3. berberine hydrochloride

2.4.4.5 回收率试验:精密吸取黄芩苷对照品贮备液 4 mL、盐酸巴马汀对照品贮备液 4 mL 和盐酸小檗碱对照品贮备液 6 mL 于同一 25 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,得黄芩苷(0.201 6 mg/mL)、盐酸巴马汀(0.055 1 mg/mL)和盐酸小檗碱(0.124 8 mg/

mL)混合对照品溶液。取芙蓉凝胶约 2 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密称取等量硅藻土于同一锥形瓶中,将二者混合分散均匀;取混合物约 0.2 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入流动相 9.5 mL、混合对照品溶液 0.5 mL,其余操作同 2.4.3 项供试品溶液的制备,按 2.4.1 项色谱条件进行测定。分别计算回收率,结果平均回收率黄芩苷为 101.49%,RSD 为 1.18%(n=6),盐酸巴马汀为 100.49%,RSD 为 0.87%(n=6),盐酸小檗碱为 101.23%,RSD 为 1.42%(n=6)。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

Tab. 1 Results of recovery test

成分	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
黄芩苷	0.105 8	0.100 8	0.208	101.00		
	0.105 6	0.100 8	0.209	102.30		
	0.105 8	0.100 8	0.210	102.97	101.49	1.18
	0.106 0	0.100 8	0.209	102.26		
	0.105 8	0.100 8	0.213	100.46		
	0.105 7	0.100 8	0.212	99.93		
盐酸巴马汀	0.027 1	0.027 6	0.054 5	99.28		
	0.027 0	0.027 6	0.054 9	101.09		
	0.027 1	0.027 6	0.054 6	99.64	100.49	0.87
	0.027 1	0.027 6	0.055 0	101.09		
	0.027 1	0.027 6	0.055 1	101.45		
	0.027 0	0.027 6	0.054 7	100.36		
盐酸小檗碱	0.105 8	0.062 4	0.128 6	100.41		
	0.105 6	0.062 4	0.128 8	100.98		
	0.105 8	0.062 4	0.128 4	100.14	101.23	1.42
	0.106 0	0.062 4	0.128 3	99.84		
	0.105 8	0.062 4	0.133 0	103.25		
	0.105 7	0.062 4	0.132 6	102.77		

2.4.5 样品测定 取 3 批样品,按供试品溶液制备方法制成供试液,精密吸取对照品溶液 0.5 μL,供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,计算黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱含量。结果见表 2。

表 2 芙蓉凝胶中黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱含量测定结果

Tab. 2 Contents of berberine hydrochloride, palmatin hydrochloride and baicalin in Furong Gel

编号	平均含量/%			RSD/%			测定次数
	黄芩苷	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱	黄芩苷	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱	
1	0.132	0.027	0.072	1.14	1.37	1.57	6
2	0.108	0.028	0.074	1.67	1.42	1.10	5
3	0.106	0.024	0.066	0.79	0.60	0.89	5

3 讨论

3.1 曾经针对芙蓉叶中的芦丁等黄酮类成分进行了薄层层析鉴别,但阴性对照有干扰,高效液相色谱也显示阴性对照液中含有芦丁,与泽兰中含有芦丁成分的文献记载相符,故放弃。研究泽兰薄层层析时以熊果酸和齐墩果酸作为阳性对照,尝试了多种供试液制备方法和展开剂种类,目前的条件干扰小、斑点清晰,但仍不能分离熊果酸和齐墩果酸,原因是二者为同分异构体,化学性质极其相近。鉴别黄芩时,尝试了多种吸附剂和展开剂,制剂中的基质和其它成分总有干扰;现针对黄酮苷元成分进行鉴别,采用现行展开剂,可鉴别多种成分,斑点较为清晰。

3.2 含量测定时,分别对提取溶剂种类及用量、提取方法及时间进行了单因素考察,优选出的条件对芙蓉凝胶中黄芩苷和盐酸小檗碱的提取率高;HPLC 分析时尝试过多种流动相,目前采用的流动相分离度、对称性等符合要求,可同时测定芙蓉凝胶中黄芩苷、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的含量。

参考文献:

[1] 张志礼. 中西医结合皮肤性病学 [M]. 北京:人民卫生出版社,2000:526.
[2] 曾祖平,乔文越,刘 然,等. 芙蓉凝胶的研制 [J]. 中国医院药学杂志,2009,29(19):15-18.
[3] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
[4] 药典委员会. 中华人民共和国药典中药薄层色谱彩色图集 [M]. 广州:广东科技出版社,1993:70-71.