

# HPLC 法测定舒利通颗粒中巴马丁和小檗碱的含量

蔡清宇<sup>1</sup>, 张 沂<sup>1</sup>, 郝 特<sup>1</sup>, 仝会娟<sup>2</sup>, 康 琛<sup>2</sup>, 李曼玲<sup>2\*</sup>

(1. 海军总医院药剂科, 北京 100037; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 建立以高效液相色谱法测定舒利通颗粒中巴马丁和小檗碱含量的方法。方法: 色谱柱: Kromasil-C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1 mol · L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液 (28:72); 流速: 1 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长: 345 nm; 柱温: 室温。结果: 盐酸巴马丁在 0.016 ~ 0.080 μg 范围内 ( $r=0.999\ 8$ ), 盐酸小檗碱在 0.027 ~ 0.135 μg 范围内 ( $r=0.999\ 9$ ) 呈良好的线性关系。盐酸巴马丁平均回收率为 99.74%, RSD = 2.67% ( $n=5$ ); 盐酸小檗碱平均回收率为 103.53%, RSD = 1.48% ( $n=5$ )。结论: 此方法简捷、准确性、重复性好、专属性强, 可供用于舒利通颗粒的质量标准研究。

**[关键词]** 舒利通颗粒; 盐酸小檗碱; 盐酸巴马丁; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0042-03

## Dertermination of Palmatine and Berberine in Shulitong Granule by HPLC

CAI Qing-yu<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>1</sup>, HAO Te<sup>1</sup>, TONG Hui-juan<sup>2</sup>, KANG Chen<sup>2</sup>, LI Man-ling<sup>2\*</sup>

(1. Department of Pharmacy, Navy General Hospital, Beijing 100037, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a HPLC method for the determination of palmatine and berberine in Shulitong Granule. **Methods:** A Kromasil-C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used for the HPLC determination. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.1 mol/L potassium dihydrogen phosphate (28:72), and the flow rate was 1 mL/min. The detection wavelength was 345 nm. **Results:** A good linear relationship was constructed in the range of 0.016 ~ 0.080 μg ( $r=0.999\ 8$ ), for Palmatine hydrochloride and in the range of 0.027 ~ 0.135 μg ( $r=0.999\ 9$ ) for berberine hydrochloride. The average recovery of palmatine hydrochloride was 99.74% (RSD = 2.67%,  $n=5$ ), and that of berberine hydrochloride was 103.53%, RSD = 1.48% ( $n=5$ ). **Conclusion:** The developed method is simple, reproducible, specific and suitable for the quality control of Shulitong Granule.

**[Key words]** Shulitong Granule; berberine hydrochloride; palmatine hydrochloride; HPLC

舒利通颗粒由玄参、黄柏、元胡、川牛膝、红藤、虎杖等中药组成, 是我院研制的中药制剂, 具有滋阴降火、疏通精道、清化湿热和活血化淤的功效<sup>[1]</sup>, 并经系统临床观察证实对慢性前列腺炎具有显著疗效<sup>[2]</sup>。黄柏为方中主药之一, 盐酸巴马丁和盐酸小檗碱为其主要成分。笔者选用目前较为常用的高效液相色谱法同时对盐酸巴马丁和盐酸小檗碱两种成分进行含量测定。此方法简捷、准确性、重复性好、

专属性强, 可用于舒利通颗粒的质量控制。

### 1 仪器与试剂

仪器: HP1100HPLC 仪; G1314A 紫外检测器, G1310A 单泵, G1314A 手动进样器, G1316A 柱温箱, G1322A 在线脱气机, Agilent Chem-station 色谱工作站; KQ-100 型超声清洗器; 化学试剂: 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

盐酸巴马丁和盐酸小檗碱对照品 (均购自中国药品生物制品检定所, 盐酸巴马丁批号: 0732-9604; 盐酸小檗碱批号: 110713-200690), 供含量测定用。

**[收稿日期]** 2009-07-13

**[通讯作者]** \* 李曼玲, Tel: (010)64035275

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Kromasil-C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1 mol · L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液 (28:72); 流速: 1 mL · min<sup>-1</sup>; 波长: 345 nm; 柱温: 室温。理论塔板数以盐酸巴马丁计不得少于 3 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取巴马丁和盐酸小檗碱对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 中含 6.4 μg 巴马丁和 10.8 μg 盐酸小檗碱的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取装量差异项下的本品, 研细, 取约 10 g, 精密称定, 加入盐酸-甲醇 (1:100) 50 mL, 精密称定, 超声处理 30 min (功率 100 W, 频率 40 KHz), 室温放置过夜, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过。精密量取滤液 3 mL, 置氧化铝柱 (中性氧化铝 3 g, 湿法装柱, 用乙醇 20 mL 预洗) 上, 用乙醇 30 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解定容至 5 mL 量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取上述对照品溶液 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 以进样量为横坐标 (X) 绘制标准曲线, 计算回归方程得到:  $Y = 4.00 \times 10^6 X + 3.73 \times 10^3$ ,  $r^2 = 0.9997$ , 表明盐酸巴马丁在 0.016 ~ 0.080 μg 范围内呈线性关系;  $Y = 4.00 \times 10^6 X + 4.38 \times 10^3$ ,  $r^2 = 0.9998$ , 表明盐酸小檗碱在 0.027 ~ 0.135 μg 范围内呈线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取供试品溶液, 连续进样 5 次, 计算其峰面积积分值的相对标准偏差, 结果显示, 盐酸巴马丁 RSD = 0.47%, 盐酸小檗碱 RSD = 0.65%, 表明该法精密度良好。

**2.6 重复性试验** 精密称取同一批样品约 10 g, 共 5 份, 按“2.3 项”下方法制备供试品溶液, 测定峰面积并计算含量, 结果, 盐酸巴马丁 RSD = 2.76%, 盐酸小檗碱 RSD = 2.99%。

**2.7 稳定性试验** 取供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24 h 测定, 结果表明, 其在 24 h 内基本稳定。

**2.8 空白试验** 按处方比例和样品制备工艺制备成药空白 (即除去欲测药材黄柏后制成的成药), 并按“2.3 项”下方法制成阴性对照溶液进行测定。结果显示成品的空白对照液, 在盐酸巴马丁和盐酸小檗碱的色谱峰处未发现明显色谱峰, 表明阴性无干扰。色谱见图 1。

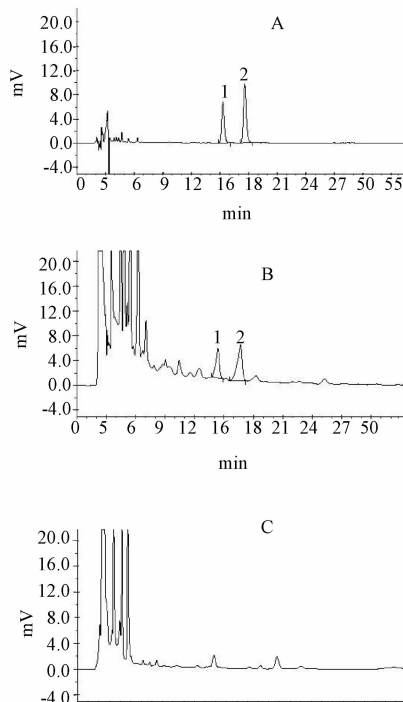


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照  
1. 盐酸巴马丁; 2. 盐酸小檗碱

**2.9 加样回收率试验** 采用加样回收法, 精密称定已知含量的舒利通颗粒 (研细) 2 g, 分别添加盐酸巴马丁和盐酸小檗碱对照品, 按“2.3 项”下方法制备供试品溶液进行测定, 计算回收率, 结果见表 1~2, 结果表明, 本方法回收率良好。

表 1 盐酸巴马丁回收率测定

样品称样量	样品中盐酸巴马丁的含量 (μg)	对照品加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均值加样回收率 (%)	RSD (%)
2.007 7	24.384		110.534	99.02		
2.008 9	24.399		113.748	102.70		
2.030 5	24.661	87.00	113.748	102.40	99.74	2.67
1.985 5	24.115		108.573	97.08		
1.973 4	23.968		108.801	97.51		

表 2 盐酸小檗碱回收率测定

样品称样量	样品中盐酸小檗碱的含量 (μg)	对照品加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均值加样回收率 (%)	RSD (%)
2.007 7	39.606 0		166.308	101.4		
2.008 9	39.629 6		169.185	103.6		
2.030 5	40.055 7	125.00	171.293	105.0	103.53	1.48
1.985 5	38.639 2		169.793	104.9		
1.973 4	38.403 8		166.865	102.8		

**2.10 样品测定** 取 3 个批号的样品,按照“2.3 项”下供试品溶液制备操作,并按上述色谱条件测定样品中盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的含量。结果见表 3。

表 3 3 批样品含量测定( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )

批次	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
1	12.29	19.79
2	12.44	20.09
3	12.14	18.52

### 3 讨论

本实验中,我们对文献报道<sup>[3,4]</sup>的提取溶剂比例,即盐酸:甲醇(1:100)进行相应的调整,分别为 0.5:100 和 1.5:100,综合巴马汀和小檗碱两者的含量测定结果表明,提取效果最好的溶剂比例为 1:100。并选用 40,50 及 60 mL 进行了提取溶剂量比较试验,综合两种成分测定结果考量,选用加入 50 mL 溶剂最为适宜。

此外,本实验对超声处理、加热回流和冷浸 3 种提取方法进行了比较。结果显示,冷浸法测得含量最低,超声和回流有差距,但是不大,考虑到实际实验的方便性,选择超声处理提取法。并在此基础上,分别选择 20,30,40 min,3 种提取时间比较,综合考察,采用超声处理 30 min 测得两者的含量最为合

理。另对放置过夜与否进行比较试验,结果表明,放置过夜后含量有较大的提高,故选择放置过夜。

**3.2 柱洗脱溶剂量的选择** 根据经验,一般采用柱体积的 8~10 倍洗脱溶剂进行洗脱,故我们首先采用 25 mL 进行洗脱,然后再用 5mL 乙醇进行洗脱,用高效液相检测,结果发现仍有少量成分,再用 5 mL 乙醇进行洗脱,收集滤液进行高效液相色谱检测,色谱结果发现几乎没有成分洗脱。因此本文采用 30 mL 乙醇作为洗脱溶剂的量,也即 10 倍量的洗脱液。

### [参考文献]

- [1] 江海身.慢性前列腺炎当从“精道”论治[J].北京中医药大学学报,1999,22(6):611.
- [2] 凌云,江海身,张永林,等.舒利通颗粒的镇痛抗炎作用研究[J].中国药房,2005,16(11):819.
- [3] 王敏,李翔,王洪,等.反相离子对高效液相色谱法测定黄柏及其颗粒剂中小檗碱及巴马汀的含量[J].第二军医大学学报,2005,26(2):195.
- [4] 代龙.HPLC 测定功劳去火片中盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的含量[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(7):17.