

· 研究报告 ·

## HPLC法测定冬柏通淋合剂中盐酸小檗碱的含量

侯晓丽, 谭朝丹, 时扣荣, 顾伟鹰, 陈伟成 (上海中医药大学附属第七人民医院, 上海 200137)

**[摘要]** 目的 建立 HPLC 法测定冬柏通淋合剂中盐酸小檗碱的含量。方法 采用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠(用磷酸调节 pH=3)(28:72); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 室温(25 ℃); 检测波长: 345 nm。结果 盐酸小檗碱在 1.00~50.00 μg/ml 范围内线性关系良好( $r=0.9996$ ), 平均回收率为 104.70%, RSD 为 1.60% ( $n=5$ )。结论 该方法准确、灵敏度高、专属性强、重现性好, 对提高冬柏通淋合剂的质量控制标准具有参考意义。

**[关键词]** 冬柏通淋合剂; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2017)04-0353-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.016

## Berberine hydrochloride assay in Dongbai Tonglin Heji by HPLC method

HOU Xiaoli, TAN Zhaodan, SHI Kourong, GU Weiyong, CHEN Weicheng (Department of Pharmacy, Seventh People's Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, 200137, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish a HPLC method for determination of berberine hydrochloride in Dongbai Tonglin Heji. **Methods** The separation column of Kromasil C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile and 0.05 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> solution (pH was adjusted to about 3 with phosphoric acid). The flow rate was 1.0 ml/min with the column at room temperature and the detection wavelengths at 345 nm for berberine hydrochloride. **Results** The linear range of berberine hydrochloride was 1.00~50.00 μg/ml ( $r=0.9996$ ). The average recoveries of berberine hydrochloride were 104.70% (RSD 1.60%,  $n=5$ ). **Conclusion** This method is accurate, sensitive, selective and reproducible. It provides an alternative method to improve the quality control of Dongbai Tonglin Heji.

**[Key words]** Dongbai Tonglin Heji; berberine hydrochloride; HPLC

慢性尿路感染<sup>[1]</sup>是临床较为常见的一种疾病,常于急性尿路感染经初步治疗后未能完全治愈,伴有尿频、尿急、尿痛等下尿路刺激症状,常反复发作,多属中医淋证中“劳淋”的范畴。由于是细菌直接引起的泌尿系统感染,西医需长期用药治疗,但效果不佳,且易引起细菌耐药和不良反应。

冬柏通淋合剂是根据全国著名肾病专家、上海市第七人民医院叶景华教授的经验方开发的院内制剂,早在 20 世纪 60 年代就开始用于临床治疗急慢性肾盂肾炎、泌尿系统感染,因疗效显著深受患者欢迎<sup>[2]</sup>。黄柏作为方中的主要有效成分之一,因具有

清热燥湿,泻火除蒸,解毒疗疮等功效<sup>[3]</sup>,用于湿热泻痢、黄疸、带下、热淋、阴虚火旺、盗汗骨蒸等,而被《本草纲目》等多种中药典籍所记载。

黄柏作为本方中主要药味成分,目前尚无其含量测定方法和限度要求的研究报道。盐酸小檗碱是中药黄柏中的主要活性成分之一,也是《中华人民共和国药典》2015 年版(一部,简称《中国药典》)黄柏含量测定的指标。为了提高中药制剂的质量,本研究采用 HPLC 法建立了冬柏通淋合剂中盐酸小檗碱的含量测定方法,并根据测定结果制订了相关的含量限度,为其质量标准提高以及处方工艺进一步优化提供参考依据。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 岛津 LC-20AD 高效液相色谱系统(日本岛津公司);pH 测试仪(瑞士梅乐特-托利多仪器有限公司);DL-720A 型超声波清洗器(上海之信仪器有限公司);XS205DU 型电子天平(瑞士梅乐特-

**[基金项目]** 上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划项目(ZY3-JSFC-2-1011);上海中医药大学附属第七人民医院“七院新星”人才培养计划(XX2016-10)

**[作者简介]** 侯晓丽,硕士研究生,药师。Email: houxiaoli1225@163.com

**[通讯作者]** 陈伟成,本科,主任药师。研究方向:医院制剂、中药成分分析。Email: wisechr@126.com

托利多仪器有限公司)。

**1.2 试剂和药品** 冬柏通淋合剂(上海市第七人民医院委托上海杏灵科技药业股份有限公司生产,批号:1605001),盐酸小檗碱对照品(四川协力制药有限公司,批号:20110830);阴性对照品(医院自制);乙腈、甲醇均为色谱纯;水为娃哈哈高纯水;其他试剂均为分析纯。

## 2 方法和结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相:乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钠(用磷酸调节 pH=3)(28:72), 流速:1.0 ml/min; 柱温:室温(25 °C); 检测波长:345 nm; 进样量:20 μl。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 取在 120 °C 干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品,精密称定,置棕色量瓶中,加 50%

甲醇适量,超声使之溶解,放冷,定容至刻度,摇匀,分别配制成每 1 ml 中含盐酸小檗碱 100 μg 的标准溶液,备用。

**2.2.2 供试品溶液** 精密量取冬柏通淋合剂 5 ml,置 50 ml 量瓶中,加流动相 35 ml,超声处理 15 min,放冷,流动相溶液定容至 50 ml,摇匀。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,精密量取续滤液 0.5 ml,即得供试品溶液。

**2.2.3 阴性对照溶液** 按处方比例称取除黄柏以外的各种药材适量,依照处方工艺及供试品溶液制备方法,制得阴性对照溶液。

**2.3 专属性试验** 按照上述色谱条件,分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 20 μl,进样测定。结果表明,供试品溶液色谱图中,在与对照品溶液色谱相同的保留时间上有相同的色谱峰,而阴性对照品在此处无吸收峰,表明专属性良好,结果见图 1。

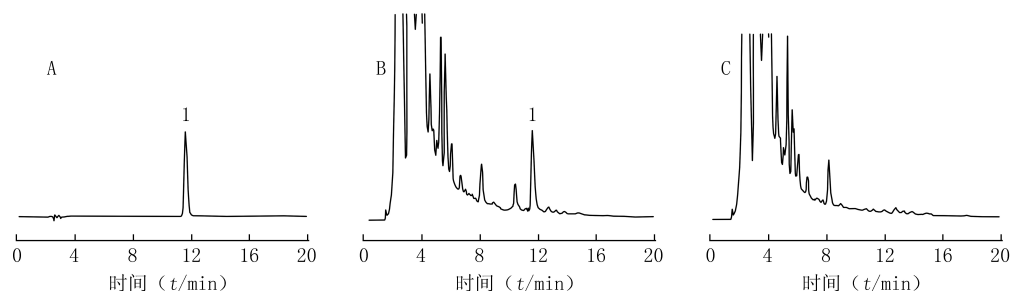


图 1 冬柏通淋合剂的 HPLC 图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照溶液; 1. 盐酸小檗碱

**2.4 线性关系考察** 分别精密量取“2.2.1”项下的盐酸小檗碱对照品溶液适量,置 10 ml 棕色量瓶中,加流动相稀释,定容至刻度,混匀,使盐酸小檗碱含量为 1.00、5.00、10.00、25.00、50.00 μg/ml。按“2.1”项下色谱条件,进样 20 μl,测定峰面积。以样品浓度为横坐标(X, μg/ml),峰面积为纵坐标(Y),计算回归方程:Y=516 45X-44 736, r=0.999 6。结果表明盐酸小檗碱在 1.00~50.00 μg/ml 范围内呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

**2.5.1 日内精密度** 精密吸取同一份对照品溶液 20 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样 5 次,记录峰面积。结果 RSD 为 1.31% (n=5),表明精密度较好。

**2.5.2 日间精密度** 精密吸取同一份对照品溶液 20 μl,按“2.1”项下色谱条件每天测定 1 次,连续测定 5 d,记录峰面积。结果 RSD 为 1.52% (n=5),

表明精密度较好。

**2.6 稳定性试验** 依“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备冬柏通淋合剂供试品溶液(批号:1605001),分别在 0、2、4、6、8 h 各进样 1 次,记录峰面积,计算得到盐酸小檗碱的 RSD 为 0.93% (n=5),表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 精密称取同一批冬柏通淋合剂样品(批号:1605001) 5 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取 20 μl 进样,记录峰面积,计算盐酸小檗碱的含量,含量平均值为 0.025 2 mg/ml, RSD 为 1.74% (n=5),表明本方法重复性良好。

**2.8 加样回收率试验** 精密量取同一批已知盐酸小檗碱含量的冬柏通淋合剂(批号:1605001,盐酸小檗碱含量约 0.025 mg/ml, 5 ml) 5 份,每份 5 ml,各加入盐酸小檗碱(0.253 mg/ml)、对照品溶液 5 ml,

(下转第 378 页)

