

# HPLC法测定射干配方颗粒中射干苷的含量

郭志辉

(天津市中心妇产科医院, 天津 300052)

**摘要** 目的: 测定射干配方颗粒中射干苷的含量。方法: 采用高效液相色谱方法, 使用 *Diamonsil C<sub>18</sub>* (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈 - 0.2% 磷酸水 (78: 22), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 265 nm, 柱温 35 °C。结果: 射干苷进样量在 0.06~ 0.48 μg 范围内与峰面积线性关系良好, *r* = 0.9999。高、中、低 3 个剂量组平均回收率 (*n* = 3) 分别为 99.05%, 100.1%, 100.0%; RSD 分别为 0.51%, 1.4%, 0.55%。结论: 本文建立的高效液相色谱方法操作简便, 准确度高, 可用于射干配方颗粒中射干苷的含量测定。

**关键词** 射干配方颗粒; 射干苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254- 1793(2009)08- 1375- 03

# HPLC determination of belamcandin in Shegan dispensing granules

GUO Zhi-hui

(Tianjin Central of Obstetrics and Gynecology Hospital Tianjin 300052, China)

**Abstract Objective** To determine the content of belamcandin in Shegan dispensing granules. **Methods** The HPLC method was established. The analysis was carried out on *Diamonsil C<sub>18</sub>* (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column; The mobile phase of belamcandin was acetonitrile - 0.2% phosphoric acid (78: 22) at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; The detection wavelength was 265 nm and the column temperature was 35 °C. **Results** The linear range of belamcandin was 0.06 - 0.48 μg (*r* = 0.9999). In the high, medium, low concentration, the average recoveries of belamcandin were 99.05%, 100.1%, 100.0% with corresponding RSD 0.51%, 1.43%, 0.55%. **Conclusion** The HPLC method is easy and precise to determine the content of belamcandin in Shegan dispensing granules.

**Key words** Shegan dispensing granules; belamcandin; HPLC

射干是鸢尾科射干属植物射干 [*Belamcanda chinensis* (L.) DC.] 的干燥根茎, 在中国历代本草典籍及中国各版药典中均有收载, 主产于河北、河南、湖北、江苏等地, 具有清热解毒、利咽消痰、散血消肿的功能。临床常用其治疗咽喉肿痛、痰咳气喘等症。目前许多治疗咽喉疾病的方剂大多以射干为君药组方, 为治疗喉痹咽痛之要药。近年来临床用于治疗流感及上呼吸道感染, 效果甚佳<sup>[1]</sup>。

射干配方颗粒是由射干饮片经提取、浓缩、一步制粒等工序制成的单味中药配方颗粒剂。现代研究表明, 射干含有丰富的异黄酮类化合物, 具有明显的抗炎及抗病毒作用<sup>[2]</sup>。中国药典 2005 年版一部测定射干药材中有效成分野鸢尾黄素。本文选择射干药材中另一有效成分射干苷<sup>[3-5]</sup>为指标成分, 建立了相应的高效液相色谱方法, 为全面控制射干制剂

提供科学依据。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱系统, Agilent 1100 型检测器, Agilent 色谱工作站。

射干苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 111632-200501); 乙腈为色谱纯, 甲醇、磷酸为分析纯, 水为纯净水。射干配方颗粒 (自制, 以射干药材或饮片为原料, 经醇提取后浓缩, 加适量辅料, 一步制粒制成的颗粒; 规格: 每袋 4 g 批号: 080201, 080202, 080203)。

## 2 溶液制备

**2.1 对照品储备液** 精密称取射干苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 32.2 μg 的溶液, 即得。

**2.2 供试品溶液** 取射干配方颗粒, 研细, 精密称取粉末约 0.2 g 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇 40 mL,

超声处理(功率 250 W, 频率 33 kHz) 30 min, 放冷, 加入甲醇稀释至刻度, 摇匀。滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ )滤过, 取续滤液即得。

**2.3 阴性样品溶液** 取按处方量及制备工艺要求制备不含射干的阴性样品, 按“2.2”项下方法操作, 即得。

### 3 色谱条件

采用 Diamonsil  $\text{C}_{18}$  (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱, 以乙腈 - 0.2% 磷酸水 (78: 22) 为流动相; 流速 1.0 mL  $\cdot$  min $^{-1}$ , 检测波长 265 nm, 柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。理论板数按射干苷峰计算应不低于 3000。

按上述色谱条件, 吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 分别注入液相色谱仪, 色谱图见图 1。从色谱图可见, 样品中其他成分对射干苷的测定无干扰, 符合测定要求。

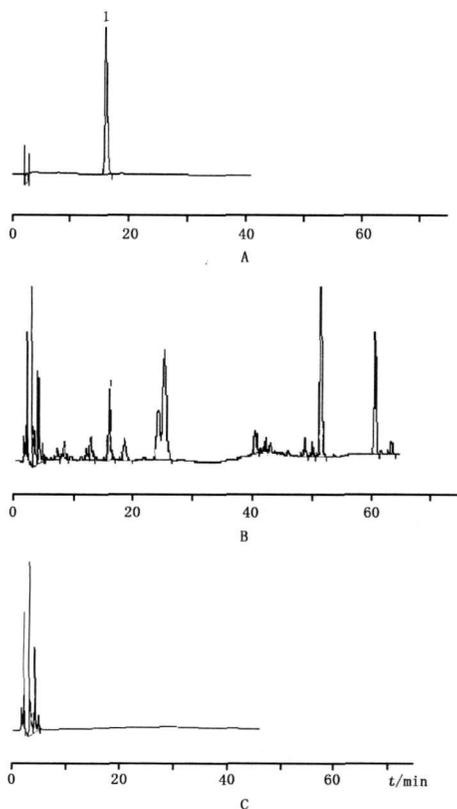


图 1 对照品 (A)、样品 (B) 及阴性样品 (C) 色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substance (A), sample (B), and negative sample without Rhizoma Belamcandae (C)

1. 射干苷 (belamcandin)

### 4 线性关系考察

精密吸取上述对照品储备液 1.0, 2.5, 4.0,

5.0, 6.0, 7.5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。各进样 20  $\mu\text{L}$ , 以色谱峰面积 ( $Y$ ) 为纵坐标, 对照品进样量 ( $X$ ,  $\mu\text{g}$ ) 为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程为

$$Y = 203.1X - 7.814 \quad r = 0.9999$$

结果表明, 射干苷进样量在 0.06 ~ 0.48  $\mu\text{g}$  范围内与峰面积有良好的线性关系。

### 5 精密度试验

精密吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 连续进样 6 次, 测得射干苷峰面积的 RSD ( $n = 6$ ) 为 0.32%, 表明精密度良好。

### 6 稳定性试验

取供试品溶液在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 分别进样 10  $\mu\text{L}$ , 测得射干苷峰面积的 RSD ( $n = 6$ ) 为 0.83%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 7 重复性试验

取同一批号样品 (080201) 按“2.2”项下方法分别制备供试品溶液 6 份, 进样测定。结果射干苷平均含量 ( $n = 6$ ) 为 40.61  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 为 0.82%, 表明该方法的重复性良好。

### 8 回收率试验

取同一批号样品 (080201) 9 份, 每份约 0.1 g 精密称定, 每 3 份为一组, 每组分别按样品中射干苷含有量的 80%, 100%, 120% 精密加入 0.5244  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  对照品溶液 6.4, 8.0, 9.6 mL, 按“2.2”项下方法制备所需溶液, 按上述色谱条件进样测定, 计算回收率。其平均回收率 ( $n = 3$ ) 分别为 99.03%, 100.1%, 100.0%; RSD 分别为 0.51%, 1.43%, 0.55%。

### 9 样品测定

分别精密吸取 32.2  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件进样测定 (每批样品取 3 份, 每份进 2 针), 外标一点法计算样品中射干苷的含量, 结果见表 1。

表 1 样品中射干苷的含量 ( $n = 3$ )  
Tab 1 Content of belamcandin in samples

批号 (Lot No)	含量 (content) / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
080201	40.61	0.82
080202	42.44	0.77
080203	36.35	0.46

### 10 讨论

**10.1 经全波长紫外扫描分析射干苷对照品和样品中所测成分相应吸收峰, 结果紫外光谱均在 266 nm**

处有最大吸收,故选择 266 nm 作为射干苷的测定波长。

10.2 本试验对提取溶剂甲醇、50% 甲醇、水进行了考察,结果表明以甲醇作为提取溶剂提取效率最高;还对超声提取、回流提取和冷浸法提取进行了比较,结果表明超声提取更为完全,且干扰少,操作简便。对提取溶剂用量及提取时间进行了考察,结果表明选择溶剂用量 40 mL,提取时间 30 min 较为合理。

10.3 本试验对流动相甲醇-水、乙腈-水系统及不同比例进行了比较,结果表明采用乙腈-0.2% 磷酸水(78:22)为流动相,分离度较好。

参考文献

1 ChP(中国药典). 2005. VolI (一部): 200  
 2 Ji Wen-liang(吉文亮). Advances in research on chemistry and

pharmacology of *Bellamcarda chinensis* (中药射干的化学与药理研究进展). *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 2000, 15 (2): 57  
 3 ZOU Kong-qiang(邹孔强), FENG Hua(冯华), LUO Xiu-qiong(罗秀琼), et al Determination of iridin in blackberry lily rhizome to introduce from north of Guizhou province with HPLC (HPLC 法测定黔北引种射干中射干苷的含量研究). *Guiling J TCM* (中医药导报), 2007, 13(9): 81  
 4 CHEN Gong(陈功), KUANG Jun(邝军), Guo Guang-yun(郭光云), et al Inhibitory effect of bellamcardin on eosinophil degranulation in vitro (射干甙抑制嗜酸性粒细胞脱颗粒实验研究). *J Pract Med* (实用医学杂志), 2007, 23(15): 2302  
 5 QIN Min-jian(秦民坚), JI Wen-liang(吉文亮), LIU Jun(刘峻), et al Scavenging effects on radicals of isoflavones from rhizome of *Bellamcarda chinensis* (射干中异黄酮成分清除自由基的作用). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(7): 640

(本文于 2008 年 10 月 27 日收到)

## 常务副所长金少鸿赴英国参加 “第 42 届国际纯化学和应用化学联合会年会”

应英国皇家化学协会 (Royal Society of Chemistry, RSC) 邀请,中检所常务副所长、《药物分析杂志》主编金少鸿教授于 2009 年 8 月 2 日至 8 月 7 日赴英国参加了在格拉斯哥 (Glasgow) 举行的“第 42 届国际纯化学和应用化学联合会年会 (42nd IUPAC)”。

国际纯化学和应用化学联合会 (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) 成立于 1919 年,目前是由包括中国大陆和中国台湾地区在内的 49 个国家和地区的化学协会参加和组成的国际化学联合会,该联合会在对化合物的命名、原子量、化学术语、化学测定的方法标准化等方面是最具权威的国际化学学术组织。有关物理化学、无机化学、有机化学、分析化学、大分子化学、化学与环境、化学与人类健康等涉及到纯化学和应用化学各个领域的最新理论和研究成果基本都在该联合会的年会上报告或在其主办的有关各类化学学术杂志上发表。

今年的年会是以“化学手段解决的问题 (Chemical Solutions)”为主题,大会共有:分析与检测、健康化学、化学教育与交流、能源与环境、工业与创新、化学材料、化学合成与反应机理等 7 个方面的议题。来自全世界各国约 1600 多位与本年会议主题相关的化学科技工作者参加了本届年会。

详见: [www.nicpbp.org.cn](http://www.nicpbp.org.cn)