HPLC 法测定抗感解毒颗粒中黄芩苷和大豆苷元

纪晓影,毕开顺,王 洋,陈晓辉*
(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘 要:**目的** 建立以高效液相色谱法同时测定抗感解毒颗粒中黄芩苷和大豆苷元的方法。**方法** Kromasil C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.08 %磷酸溶液(23∶77);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:248 nm;柱温:25 ℃;进样量:20 μL。**结果** 黄芩苷和大豆苷元分别在 5.01～40.08 mg/L,0.101～0.806 mg/L 线性关系良好,r 分别为 0.999 9、0.999 7,平均加样回收率分别为 98.4 %、97.8 %,RSD 分别为 1.3 %、1.5 %。**结论** 所建立的方法快速简便,灵敏,重现性良好,可用于抗感解毒颗粒的质量控制。

关键词:抗感解毒颗粒;黄芩苷;大豆苷元;高效液相色谱
中图分类号:R286.02 **文献标识码**:B **文章编号**:0253-2670(2010)03-0401-02

抗感解毒颗粒的现行质量标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 15 册,由葛根、黄芩等 11 味中药材经提取精制而成,具有清热解毒、凉血消肿的作用,用于风热感冒、疙腮及病毒引起的流感。方中黄芩具有清热解毒的功效,黄芩苷是其主要化学成分。葛根主要成分为异黄酮类化合物,具有生津解肌的功效,对于各种病毒细菌引起的流感、腮腺炎、风疹等疗效显著,大豆苷元为其主要有效成分。已有文献报道采用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷[1,2]。本研究建立了同时测定抗感解毒颗粒中黄芩苷和大豆苷元的高效液相色谱法,为完善现有质量标准提供了科学依据。

1 仪器、试剂和材料

岛津 LC—2010 高效液相色谱仪,CLASS-VP 色谱数据工作站。SARTORIUS CP225D 型天平(德国赛多利斯公司)。黄芩苷对照品(批号 110715-200514)购自中国药品生物制品检定所,大豆苷元对照品(≥98 %)购自上海同田生物技术有限公司。抗感解毒颗粒由沈阳圣元药业有限公司提供。甲醇、乙腈(色谱纯,山东禹王化学试剂厂),磷酸(分析纯,天津市大茂化学试剂厂),水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验:Kromasil C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.08 %磷酸溶液(23∶77);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:248 nm;柱温:25 ℃;进样量:20 μL。在上述色谱条件下,理论塔板数按大豆苷元计算不低于 5 000,分离度与拖尾因子均符合要求。

2.2 溶液制备

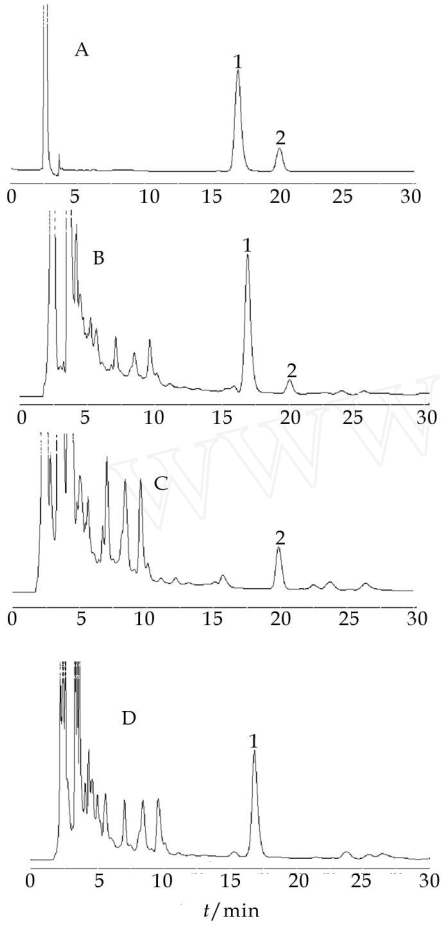
2.2.1 对照品溶液制备:取经减压干燥的大豆苷元对照品适量,精密称定,置 20 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 100.8 mg/L 大豆苷元对照品溶液。取经减压干燥的黄芩苷对照品适量,精密称定,置 50 mL 量瓶中,精密量取 100.8 mg/L 大豆苷元对照品溶液 1 mL,置同一 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为 100.2、2.016 mg/L 的黄芩苷和大豆苷元的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液制备:取抗感解毒颗粒,研细,取约 1.0 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加 50 %甲醇 30 mL,密塞,称定质量,超声处理 20 min,放冷,再称定质量,用 50 %甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,过 0.45 μm 滤膜,即得。

2.3 阴性样品干扰的考察:按抗感解毒颗粒的处方分别制备不含黄芩和葛根的阴性样品,照供试品溶液制备项下方法制备阴性样品溶液,测定,结果见图 1。结果表明样品中其他成分对测定无干扰,本测定方法可行。

2.4 线性关系考察:分别精密量取混合对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL,置于 10 mL 量瓶,加甲醇至刻度,摇匀,即得不同质量浓度的系列混合对照品溶液,在上述色谱条件下测定。以黄芩苷和大豆苷元对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程。黄芩苷:Y = 37 748 X - 51 087 (r = 0.999 9),大豆苷元:Y = 257 134 X - 618 (r = 0.999 7),结果表明黄芩苷和大豆苷元分别

①收稿日期:2009-07-09
作者简介:纪晓影(1985-),女,吉林省九台市人,硕士,从事质量标准研究。
Tel:(024)23986296 E-mail:jxy_19851019@126.com



1-黄芩苷 2-大豆苷元

1-baicalin 2-daidzein

图 1 对照品(A)、抗感解毒颗粒(B)、缺黄芩阴性样品(C)和缺葛根阴性样品(D)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A), Kanggan Jiedu Granula (B), negative sample without Radix Scutellariae **(C), and negative sample without** Radix Puerariae **(D)**

在 5.010～40.08 mg/L,0.101～0.806 mg/L 线性关系良好。

2.5 精密度试验:取同一对照品溶液(黄芩苷质量浓度为 20.04 mg/L、大豆苷元质量浓度为 0.403 mg/L)连续进样 6 次,测定黄芩苷和大豆苷元的峰面积,计算得 RSD 分别为 0.36%、0.66%。

2.6 重现性试验:分别取抗感解毒颗粒(批号为 000821),研细,每份约 1.0 g,精密称定,制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,黄芩苷和大豆苷元质量分数的 RSD 分别为 1.3%、1.7%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液(批号为 000821),在室温下放置,分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 测黄芩苷和大豆苷元的峰面积,结果黄芩苷和大豆苷元峰面积的 RSD 分别为 2.3%、2.9%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 回收率试验:取抗感解毒颗粒样品(批号 000821)约 0.5 g(含黄芩苷 0.2210 mg,含大豆苷元 0.0071 mg),精密称定,平行 9 份,每 3 份为一组,分别精密加入含黄芩苷 220.4 mg/L、大豆苷元 7.056 mg/L 的对照品溶液 1.5、1.0、0.5 mL,制备供试品溶液,在上述色谱条件下,取 20 μL 分别进样测定,并计算黄芩苷和大豆苷元的回收率,结果分别为 98.4%(RSD 为 1.3%)、97.8%(RSD 为 1.5%)。

2.9 样品的测定:取 3 批样品各约 1.0 g,精密称定,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,记录色谱图,按外标法计算质量分数,结果见表 1。

表 1 抗感解毒颗粒中黄芩苷和大豆苷元的测定结果 (n = 3)

Table 1 Determination of baicalin and daidzein in Kanggan Jiedu Granula (n = 3)

批号	黄芩苷/(mg·g⁻¹)	大豆苷元/(mg·g⁻¹)
000821	0.430 5	0.013 8
001123	0.413 6	0.012 8
000115	0.415 4	0.013 6

3 讨论

3.1 提取方法选择:本研究对提取溶剂、提取时间、提取方法和提取溶剂体积进行考察,提取溶剂:甲醇、乙醇、水、25%甲醇、50%甲醇、75%甲醇;提取时间:15、20、30、40、60 min;提取方法:超声、回流;提取溶剂体积:10、20、30、40、50 倍量,结果表明,50%甲醇,30 倍量,超声 20 min 可将样品中黄芩苷和大豆苷元提取完全。

3.2 流动相选择:考察了甲醇-磷酸水溶液、乙腈-磷酸水溶液流动相系统,以及不同磷酸的量对分离效果的影响,结果表明,流动相中的乙腈对峰的分离有较大的影响,流动相中含有 0.08%的磷酸可以使分离度达到要求。

3.3 检测波长选择:通过紫外扫描的光谱图可知,黄芩苷在 278 nm 处有最大吸收,大豆苷元在 248 nm 处有最大吸收,但大豆苷元的质量分数比较小,因此选择 248 nm 作为检测波长。

参考文献:

[1] 王亚娟,陈 睿. 抗感解毒颗粒质量标准研究[J]. 陕西中医学院学报. 2006,29(4):60-62.

[2] 冯 波,施春玲,郝乘仪,等. RP-HPLC 法测定芎菊上清丸中黄芩苷[J]. 中草药,2009,40(5):743-744.