

HPLC 法测定黄豆苷元片中黄豆苷元的含量

杨俊玲, 李 晶¹, 冯东兴¹ (山西省运城市药品检验所, 运城 044000; ¹ 长治医学院)

摘要: 目的 建立测定黄豆苷元片中黄豆苷元含量的 HPLC 分析方法。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 为色谱柱, 流动相: 甲醇-水 (65: 35), 检测波长: 249nm, 流速: 1.0 mL · min⁻¹。结果 黄豆苷元在 0.1643~0.6573 μg 范围内线性关系良好 ($r=0.9999$); 样品的平均回收率为 99.8% ($n=6$); RSD 为 0.68%。结论 方法简便、快速、准确、所测结果稳定、重现性好、专属性强, 可用于黄豆苷元片的含量测定。

关键词: 黄豆苷元片; HPLC; 含量

中图分类号: R284; R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2009) 10-1005-02

Determination of Daidzein in Daidzein Tablets by HPLC

Yang Junling, Li Jing¹ and Feng Dongxing¹ (Yuncheng Institute for Drug Control, Yuncheng 044000; ¹ Changzhi Medical College)

ABSTRACT: **Objective** A HPLC method for determination of daidzein in Daidzein Tablets was developed. **Methods** Diamonsil C₁₈ column was used with methanol and water (65: 35) as mobile phase. The detecting wavelength was 249nm and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. **Results** The linear range for daidzein was 0.1643~0.6573 μg ($r=0.9999$). The average recovery was 99.8% ($n=6$), and RSD was 0.68%. **Conclusions** The method is simple, rapide, accurate, reproducible and specific. It can be used for determination of Daidzein Tablets.

KEY WORDS: Daidzein Tablets; HPLC; determination

黄豆苷元 (曾用名: 葛根素、葛根黄豆苷元) 是从野生葛根中提取的一种异黄酮类化合物^[1], 黄豆苷元片的现行标准^[2]中的含量测定采用紫外分光光度法。本文采用高效液相色谱法测定^[3]其含量, 该方法操作简单, 精密度良好, 结果准确可靠。

1 仪器与试剂

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪 (岛津), SPD 紫外检测器, LC Solution 工作站。AB204S 电子天平, AB135-S 电子天平。黄豆苷元对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 100347-200301); 黄豆苷元片 (山西澳迩药业有限公司, 批号: 20070702, 20070506, 20070615); 甲醇为色谱纯; 水为超纯水 (临用新制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Diamonsil C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5 μm);

流动相: 甲醇-水 (65: 35), 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 249nm; 柱温: 20℃; 进样量: 20 μL。理论塔板数按黄豆苷元峰计算不少于 2000, 黄豆苷元峰与其他杂质峰的分离度大于 1.5。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备

精密称取黄豆苷元对照品 10.27mg, 置 100mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声溶解, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密吸取对照品贮备液 2mL, 置 50mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备

取本品 10 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量 (约相当于黄豆苷元 10mg), 置 100mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声溶解, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 2mL 置 50mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻

度, 摇匀, 即得。

2 3 线性关系考察

精密吸取上述对照品贮备液 2, 3, 5, 6, 7, 8mL, 分别置 25mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 20μL 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进样测定, 以对照品进样量 (μg) 为横坐标 (X), 峰面积 (A) 为纵坐标进行线性回归, 求得回归方程:

$A = 6\,3720 \times 10^3 X + 1.9838 \times 10^3 \quad r = 0.9999$

结果表明, 黄豆苷元在 0.1643~ 0.6573μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2 4 精密度试验

精密吸取上述对照品溶液 20μL, 重复进样 8 次, 测得峰面积平均值为 1196660, RSD 为 0.41%。

2 5 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液, 于 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7h, 分别进样测定, 记录色谱图, 其峰面积的平均值为 1040890, RSD 为 0.39%。表明供试品溶液在 7h 内稳定。

2 6 重复性试验

取同一批号的样品(批号: 070702)6 份, 按供试品溶液的制备方法制备, 分别测定。6 份样品黄豆苷元的平均含量为标示量的 97.9%, RSD 为 0.19%。

2 7 空白试验

取对照品溶液、供试品溶液、空白溶液, 按色谱条件各进样 20μL, 见图 1。从色谱图中可看出, 阴性样品无干扰。

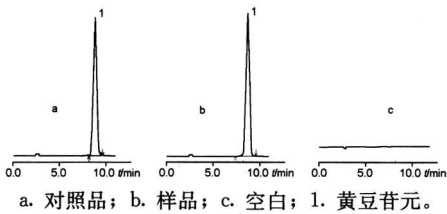


图 1 黄豆苷元片 HPLC 色谱图

2 8 加样回收率试验

精密称取已知含量的黄豆苷元片 (批号: 070615, 含量 $996\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 适量 (约含黄豆苷元 10mg) 6 份, 分别置 100mL 的量瓶中, 加甲醇稀释至刻度; 分别精密吸取 2mL, 置 50mL 量瓶中, 再精密加入黄豆苷元 ($0.098\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 对照品溶液各 2mL, 按供试品溶液的制备方法制备, 测定, 计算回收率, 结果见表 1。

2 9 样品的含量测定

照含量测定方法, 测定样品, 结果见表 2。

表 1 回收率试验结果 (n= 6)

供试品中黄豆 苷元的含量 (mg)	黄豆苷元 加入量 (mg)	实测总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.199	0.196	0.394	99.5	99.8	0.68
0.198	0.196	0.396	101.0		
0.199	0.196	0.395	100.0		
0.199	0.196	0.395	100.0		
0.198	0.196	0.393	99.5		
0.198	0.196	0.392	99.0		

表 2 含量测定结果 (n= 2) %

样品批号	20070702	20070506	20070615
黄豆苷元含量	99.6	99.4	97.2

3 讨论

3 1 提取溶剂的选择

根据黄豆苷元易溶于甲醇, 微溶于热乙醇, 在水中中和三氯甲烷中几乎不溶的性质, 分别采用甲醇、乙醇、乙腈提取等方法, 结果表明先用甲醇溶解, 再用流动相提取的方法^[4-9]简便, 效果较好。

3 2 检测波长的选择

用岛津 UV-2450 紫外分光光度计, 在 200~ 400nm 的范围内作光谱扫描, 在 249nm 有一个最大吸收峰, 故确定检测波长为 249nm。

3 3 流动相的选择

经实验比较甲醇-水、乙腈-水系统, 结果表明甲醇-水系统的效果较好。对以下配制比例的测定效果进行考察: (1) 80: 20; (2) 60: 40; (3) 65: 35; (4) 70: 30。实验结果按比例 (3) 所得色谱图测定效果好, 无干扰且保留时间适当。

参考文献:

[1] 翁鸿博, 马涛, 尤越人, 等. 葛根黄豆苷元的抗缺氧缺血作用[J]. 沈阳药科大学学报, 1999, 16 (1): 63-64
[2] 化学药品地标升国标[S]. 第十六册, 2002: 165-165
[3] 中国药典[S]. 二部, 2005: 附录 28-28
[4] 郝建莉, 孔维函, 胡静, 等. 葛根异黄酮胶囊葛根素含量测定[J]. 天津药学, 2007, 19 (4): 12-14
[5] 房其年, 吴鹏, 杨林, 等. 葛根素的高效液相色谱分离和含量测定[J]. 药学报, 1983, 18 (9): 695-699
[6] 吴波, 张寒俊, 黎维勇, 等. 高效液相色谱荧光光谱法测定葛根中的葛根素[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25 (6): 534-537
[7] 吴昭晖. 高效液相色谱法测定葛根茎连微丸中葛根素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, (9): 20-22
[8] 冉晓静. 高效液相色谱法测定葛根素注射液中的葛根素的含量[J]. 药物分析杂志, 1998, 6: 400-401
[9] 郭建平. 高效液相色谱法测定葛根总黄酮及制剂中葛根素的含量[J]. 药学实践杂志, 1996, 5: 300-301