

毛细管电泳测定维 C 银翘片中维生素 C 和扑热息痛*

张晖, 薛洪宝

(蚌埠医学院化学教研室, 安徽 蚌埠 233030)

摘要: 建立了毛细管电泳测定维 C 银翘片中维生素 C 和扑热息痛的方法。采用 55 cm (40 cm 处检测窗口) \times 75 μm i. d. 熔融石英毛细管, 选择 pH = 8.89 的 30 mmol \cdot L⁻¹ Na₂HPO₄ - 30 mmol \cdot L⁻¹ 脱氧胆酸钠混合溶液作为缓冲溶液, 分离电压为 +20 kV, 以二极管阵列检测器进行检测。结果表明维生素 C 和扑热息痛的测定线性范围都比较宽, 回收率均大于 97.6%, 相对标准偏差均小于 3.2%。方法操作简便、快速、样品消耗极少, 能够用于维 C 银翘片中维生素 C 和扑热息痛的含量测定。

关键词: 毛细管电泳; 维 C 银翘片; 维生素 C; 扑热息痛

中图分类号: O657.8; R971⁺.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579 (2017) 01-0024-04

Determination of Vitamin C and Paracetamol in Vitamin C Yinqiao Tablets using CE

ZHANG Hui, XUE Hongbao

(Department of Chemistry, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China)

Abstract: A novel and sensitive method was established for the determination of Vitamin C and Paracetamol in Vitamin C Yinqiao Tablets using Capillary Electrophoresis (CE) equipped with a photo-diode array detector. The running buffer solution was 30 mmol \cdot L⁻¹ sodium hydrogen phosphate solution containing 30 mmol \cdot L⁻¹ sodium deoxycholate (pH = 8.89). The capillary column efficient length was 40 cm (i. d. 75 μm) with the separation voltage +20 kV. The result indicated that the peak area of Paracetamol and Vitamin C had a good linear relationship with their concentrations in a certain concentration range. The recoveries of both were more than 97.6% with RSDs less than 3.2%. CE method was simple and rapid in operation, sensitive and reliable in determination results with very little sample consumption, which can be used for the determination of Paracetamol and Vitamin C in Vitamin C Yinqiao Tablets.

Key words: capillary electrophoresis (CE); Vitamin C Yinqiao Tablet; Vitamin C; Paracetamol

维 C 银翘片由连翘、维生素 C、对乙酰氨基酚等 13 味中西药和硬脂酸镁等 8 种辅料制成的复方制剂, 其功效是辛凉解表、清热解毒, 主要用于治疗流行性感冒引起的发热头痛、咳嗽、口干、咽喉

疼痛等。其中, 维生素 C 又名抗坏血酸, 具有增强免疫力、预防感冒等疾病; 对乙酰氨基酚是乙酰苯胺类解热镇痛药, 临床上常称扑热息痛。

近年来, 维 C 银翘片中维生素 C、扑热息痛的

* 收稿日期: 2016-06-06

基金项目: 安徽省高校自然科学研究重点项目 (KJ2016A485); 安徽省高校自然科学研究一般项目 (KJ2015B037by); 安徽省高校省级优秀青年人才基金重点项目 (2013SQRL051ZD); 安徽省高等教育振兴计划重大教学改革研究项目 (2015zdjy101)

作者简介: 张晖 (1966 年生), 男; 研究方向: 生物分析技术; E-mail: zhanghuic688@163.com

通信作者: 薛洪宝 (1979 年生), 男; 研究方向: 色谱分析技术; E-mail: hongbaoxueqhd@126.com

测定方法主要有高效液相色谱 (HPLC) 法^[1-4]、紫外分光光度法^[5-6]、红外光谱法^[7-8]、电化学分析法^[9]等。本实验采用毛细管电泳 (CE) 法同时测定维 C 银翘片中的维生素 C 和扑热息痛, 能够得到准确测定结果的同时, 具有样品处理简单、分析时间短、峰形好等诸多优点^[10-12]。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

P/ACE™ MDQ 毛细管电泳系统 (二极管阵列检测器) (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA), 未涂层熔融石英毛细管 (河北永年锐沣色谱器件有限公司); Lab Tech 高效液相色谱仪 (Lab Tech UV 600 型紫外-可见检测器和 P600 型高压输液泵两台) (北京莱伯泰科仪器有限公司), Thermo Scientific APS-ZHYPER-SIL Dim 色谱柱 (5 μm, 250 mm × 4.6 mm i. d.), Platisil NH₂ 氨基色谱柱 (5 μm, 150 mm × 4.6 mm i. d.); BS224S 电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); SB25-12DTN 超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); pH S-3C 酸度计 (上海科学仪器有限公司); 0.22 μm 水相混合纤维素酯膜 (上海半岛实业有限公司净化器材厂)。

NaH₂PO₄、Na₂HPO₄、植酸钠、脱氧胆酸钠、NaOH、NaCl、H₃PO₄、冰醋酸、乙醇、维生素 C 对照品、扑热息痛对照品等试剂均为分析纯; 甲醇、乙腈等为色谱纯; 维 C 银翘片 A、B 购于本市药店; 蒸馏水为双蒸水 (本实验室提供)。

1.2 维生素 C 和扑热息痛对照品溶液、维 C 银翘片样品溶液的制备

用 φ = 50% 乙醇溶液分别配制维生素 C 和扑热息痛对照品储备溶液, 然后再各取适量混合制备维生素 C 和扑热息痛对照品的混合储备溶液, 再逐级稀释得到所需浓度的维生素 C 和扑热息痛对照品的混合溶液 (棕色容量瓶配制, 存放于阴凉避光处, 最好随用随配)。

分别取不同批次维 C 银翘片 A、B 各 10 片, 除去包衣, 研细。各取细粉约 0.3 g (相当于一片去包衣维 C 银翘片的质量), 准确称量, 分别置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加入适量 φ = 50% 乙醇, 超声 40 min, 冷却, 再用 φ = 50% 乙醇定容, 摇匀。过滤, 各取续滤液 1.00 mL, 分别置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加 φ = 50% 乙醇至刻度, 摇匀, 即得维 C 银翘片样品 A、B 的待测溶液。

1.3 空白对照溶液的制备

依据处方量和工艺制备不含维生素 C 和扑热息痛的空白模拟制剂, 按照“1.2”配制空白对照溶液。

1.4 电泳条件

在 25 °C 下, 采用 55 cm (40 cm 处检测窗口) × 75 μm i. d. 熔融石英毛细管, 选择 pH = 8.89 的 30 mmol · L⁻¹ Na₂HPO₄ - 30 mmol · L⁻¹ 脱氧胆酸钠混合溶液作为缓冲溶液, 进样压力为 0.5 psi, 进样时间为 3.0 s, 分离电压为 +20 kV, 以二极管阵列检测器进行检测。

每次进样前顺次用 0.1 mol · L⁻¹ NaOH 溶液、0.1 mol · L⁻¹ HCl 溶液、甲醇、缓冲溶液冲洗毛细管各 2 min。

2 结果

2.1 线性范围和检出限

分别取“1.2”配制的维生素 C 和扑热息痛对照品的系列溶液, 在“1.4”电泳条件下进样分析, 电泳图见图 1 (c)。

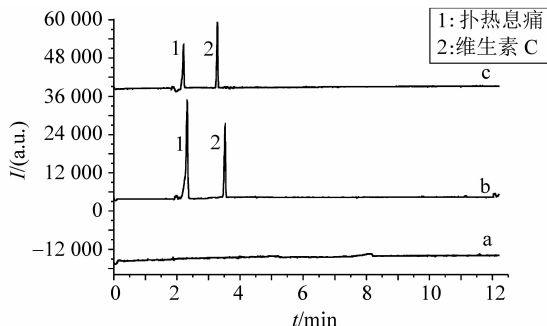


图 1 维生素 C 和扑热息痛对照品的电泳图
(a) 空白对照溶液; (b) 维 C 银翘片样品 A 溶液;
(c) 维生素 C 和扑热息痛对照品溶液

Fig. 1 Electropherograms of (a) blank control solution, (b) Vitamin C Yinqiao Tablet A solution, (c) a standard mixture solution containing Vitamin C and Paracetamol

以两组分峰面积 (y) 对相应的质量浓度 (x , $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进行线性回归, 制备标准曲线, 得到两者的线性回归方程和相关系数 (r); 按照信噪比 (S/N) = 3 时计算它们的检出限, 结果见表 1。表 1 说明: 在比较宽的浓度范围内, 维生素 C 和扑热息痛两者的峰面积与相应的浓度线性关系良好, 具有较高的灵敏度。

表 1 维生素 C 和扑热息痛的定量分析参数

Table 1 Equations, correlation coefficients, linear ranges and detection limits ($S/N=3$)

组分	线性方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	检出限/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
维生素 C	$y = 2\,542.7x + 1\,897.3$	0.997	20.0 ~ 140.0	2.2
扑热息痛	$y = 3\,425.6x - 1\,429.8$	0.995	10.0 ~ 180.0	2.9

2.2 回收率试验

在已经定量的样品 A 溶液中加入适量的维生素 C 和扑热息痛对照品, 用 $\varphi = 50\%$ 乙醇定容, 摇匀。按“1.4”电泳条件进样分析, 重复 6 次。维生素 C 和扑热息痛的回收率 (Recovery)、峰面积的相对标准偏差 (RSD) 见表 2。

2.3 精密度试验

按“1.4”电泳条件, 对维生素 C 和扑热息痛对照品溶液进行电泳分析, 重复 6 次。维生素 C 和扑热息痛峰面积的 RSD 分别为 1.4%、2.5% ($n=6$); 迁移时间的 RSD 分别为 1.1%、1.5% ($n=6$)。表明仪器的精密度很好。

2.4 干扰试验

取“1.3”制备的空白对照溶液, 按“1.4”电泳条件进样分析, 重复 6 次 ($n=6$), 电泳图见图 1 (a)。图 1 (a) 显示: 本试验电泳条件下,

维 C 银翘片中的其它成分对维生素 C 和扑热息痛的测定无干扰。

2.5 维 C 银翘片样品溶液测定

分别取“1.2”配制的维 C 银翘片样品 A、B 的溶液, 按“1.4”电泳条件进样分析测定, 重复 6 次, 样品 A 的电泳图见图 1 (b)。

依据表 1 中维生素 C 和扑热息痛线性回归方程, 由电泳峰面积分别计算 A、B 样品中维生素 C 和扑热息痛的浓度, 结果见表 2。

依据 2015 年版《中华人民共和国药典》^[13] 中 HPLC 法分别测定维 C 银翘片 A、B 样品溶液中维生素 C 和扑热息痛, 结果见表 2。

表 2 表明, CE 与 HPLC 测定结果基本上一致, 相对误差 (E_r) $< 4.7\%$ 。说明 CE 法分析数据可靠、准确, 能够用于维 C 银翘片中维生素 C 和扑热息痛的定量分析。

表 2 CE 和 HPLC 法测定结果 ($n=6$)Table 2 CE and HPLC analysis of Vitamin C and Paracetamol ($n=6$)

样品		CE			HPLC			测量样品浓度的 $E_r/\%$
		Recovery/ $\%$	RSD/ $\%$	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	Recovery/ $\%$	RSD/ $\%$	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	
A	维生素 C	103.2	2.5	78.4	102.9	3.6	80.5	-2.6
	扑热息痛	98.6	1.9	167.5	99.5	1.1	164.6	1.8
B	维生素 C	97.6	2.3	78.1	98.9	1.0	81.9	-4.7
	扑热息痛	98.4	3.2	166.7	96.7	2.4	160.0	4.2

3 讨论

考察了 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 -$ 植酸钠、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 -$ 脱氧胆酸钠等多种缓冲体系中维生素 C 和扑热息痛的基线、峰形、迁移时间、分离度等的情况。在 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 -$ 脱氧胆酸钠缓冲体系中, 两组分分离完全、基线稳定、峰形最佳。又进一步考察了 Na_2HPO_4 ($10 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、脱氧胆酸钠 ($10 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的浓度, 缓冲体系的酸度 ($\text{pH} 8 \sim 10$), 分离电压 ($+12 \sim +28 \text{ kV}$) 对峰形、迁移时间等的影响。综合考虑各种因素, 最终选择 $\text{pH}=8.89$ 的 $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{HPO}_4 - 30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 脱氧胆酸钠混合溶液为运行缓冲溶液、分离电压为 $+20 \text{ kV}$ 作为电泳条件。

缓冲溶液的选择取决于样品分离所需的 pH , 即使具有相同 pH 不同的缓冲溶液往往显示出不同的分离能力。分析物在不同 pH 缓冲溶液里的解离度不同, 电泳速率也因之改变, 因而呈现不同的分离度和灵敏度。

缓冲溶液的离子强度随浓度升高而增大, 导致电渗流变小, 其结果分析物的迁移时间将增加; 另一方面, 电流变强, 热效应使分析物峰形展宽, 分离效率反而变低。

分离电压增加时, 分析物的迁移速度升高, 分析时间减少, 然而焦耳热相应升高, 致使基线稳定性减小, 灵敏度下降; 分离电压减小, 分离效果变佳, 但是分析时间增加, 峰形展宽变差。

比较 CE 和 HPLC 两种方法的测定结果显示:

CE 法操作简便、快速、样品消耗极少, 测定结果准确、可靠, 能够用于维 C 银翘片中维生素 C 和扑热息痛的含量测定。

参考文献:

- [1] 王金宏, 江培. 维 C 银翘片中对乙酰氨基酚含量的测定[J]. 黑龙江医药, 2014, 27(4): 760 - 762.
WANG J H, JIANG P. Determination of acetaminophen in Vitamin C Yinqiao Tablets using HPLC [J]. Heilongjiang Med, 2014, 27(4): 760 - 762.
- [2] 董丽, 孙祥德, 李琴. 高效液相色谱双波长检测法测定维 C 银翘片中 4 种组分的含量[J]. 色谱, 2010, 28(2): 204 - 208.
DONG L, SUN X D, LI Q. Determination of four components in Vitamin C Yinqiao Tablets using reversed-phase high performance liquid chromatography with dual wave length detection [J]. Chin J Chem, 2010, 28(2): 204 - 208.
- [3] 杨晓, 杨钊, 李新荣. LC-MS/MS 法同时测定维 C 银翘片中 6 种成分[J]. 中成药, 2013, 35(10): 2153 - 2156.
YANG X, YANG Z, LI X R. Determination of six constituents in Vitamin C Yinqiao Tablets by LC-MS/MS [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2013, 35(10): 2153 - 2156.
- [4] 刘佳. 复方感冒灵片中对乙酰氨基酚含量测定方法的改进[J]. 中国医药科学, 2013, 3(21): 59 - 60.
LIU J. Improvement of content determination method of acetaminophen in compound Ganmaoling tablets [J]. China Medicine and Pharmacy, 2013, 3(21): 59 - 60.
- [5] 毕小平, 谢茵, 张太强, 等. 光化学荧光法测定血浆中对乙酰氨基酚的浓度[J]. 山西医学院学报, 2007, 38(11): 1002 - 1004.
BI X P, XIE Y, ZHANG T Q, et al. Determination of acetaminophen in plasma by photochemical fluorescence method[J]. J Shanxi Med Univ, 2007, 38(11): 1002 - 1004.
- [6] 开启余. 紫外分光光度法测定 VC 银翘片中维生素 C 含量[J]. 化工技术与开发, 2015, 44(4): 41 - 43.
KAI Q Y. Determination of Vitamin C in VC fructus forsythiae flakes by ultraviolet spectrophotometric Method [J]. Technology & Development of Chemical Industry, 2015, 44(4): 41 - 43.
- [7] 戴传勇, 隆玉杰, 银胜高, 等. 维 C 银翘片的红外光谱学研究[J]. 广西科学, 2014, 21(3): 275 - 278.
DAI C Y, LONG Y J, YIN S G, et al. Study on infrared spectrum of VC Yinqiao Tablets [J]. Guangxi Sciences, 2014, 21(3): 275 - 278.
- [8] 梁奇峰, 何江, 彭梦侠. 红外光谱内标法测定维 C 药片中抗坏血酸的含量[J]. 化学试剂, 2013, 35(3): 239 - 242.
LIANG Q F, HE J, PENG M X. Determination of ascorbic acid in Vc tablets by internal standard method of FT-IR [J]. Chem Reagents, 2013, 35(3): 239 - 242.
- [9] 温金莲, 周清, 龙宁, 等. 吸附伏安法测定药品中对乙酰氨基酚的含量[J]. 广东药学院学报, 2012, 28(1): 51 - 53.
WEN J L, ZHOU Q, LONG N, et al. Adsorptive voltammetric determination of paracetamol in drugs [J]. J Guangdong Pharm Univ, 2012, 28(1): 51 - 53.
- [10] COELHO A G, AGUIAR F P C, JESUS D P D. A rapid and simple method for determination of 5-hydroxytryptophan in dietary supplements by capillary electrophoresis [J]. J Braz Chem Soc, 2014, 25(4): 783 - 787.
- [11] MAHAN A E, TEDESCO J, DIONNE K, et al. A method for high-throughput, sensitive analysis of IgG Fc and Fab glycosylation by capillary electrophoresis [J]. J Immunol Methods, 2015, 417: 34 - 44.
- [12] PORTO S K, NOGUEIRA T, BLANES L, et al. Analysis of ecstasy tablets using capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection [J]. J Forensic Sci, 2014, 59(6): 1622 - 1626.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2015 年版二部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1570 - 1572.