

高效毛细管电泳法测定金果含片中橙皮苷的含量

霍天凤*

(焦作市食品药品检验所, 河南 焦作 454003)

[摘要] 目的: 建立金果含片中橙皮苷的高效毛细管电泳测定方法。方法: 以 25 mmol·L⁻¹ 硼砂缓冲溶液 (pH 10.0) 为运行缓冲液。分离电压 20 kV, 压力进样 0.5 psi × 10 s, 柱温 25 °C, 检测波长 283 nm。结果: 橙皮苷在 0.023 8 ~ 0.142 9 g·L⁻¹ ($r = 0.999 8$) 具有良好的线性关系, 平均加样回收率为 99.57%, RSD 1.03%。结论: 方法操作简便、灵敏、快速, 适用于金果含片中橙皮苷的质量控制。

[关键词] 高效毛细管电泳; 金果含片; 橙皮苷; 质量控制

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0117-03

Determination of Hesperidin in Sucking Tablets of Jinguo by High Performance Capillary Electrophoresis

HUO Tian-feng*

(Jiaozuo Institute for Food and Drug Control, Jiaozuo 454003, China)

[Abstract] **Objective:** To establish high performance capillary electrophoresis (HPCE) method to determine the content of hesperidin in sucking tablets of jinguo. **Method:** The running buffer consisted of 25 mmol·L⁻¹ borax solution (pH 10.0), applied voltage was 20 kV, injection pressure was 0.5 psi, injection time was 10 s. The chromatogram was detected at 283 nm. The column temperature was 25 °C. **Result:** The linear ranges of the hesperidin was 0.023 8-0.142 9 g·L⁻¹ ($r = 0.999 8$). Their respective average recovery was 99.57% (RSD 1.03%). **Conclusion:** The method is simple, sensitive and rapid, it could be used for the quality control of hesperidin in sucking tablets of jinguo.

[Key words] HPCE; sucking tablets of jinguo; hesperidin; quality control

金果含片主要由地黄、玄参、西青果、蝉蜕、胖大海、麦冬、南沙参、太子参、陈皮等 9 味药材制成的中药制剂, 收载于 2010 年版《中国药典》, 具有滋阴生津、清热利咽功效, 用于肺热阴伤所致的咽部红肿、咽痛、口干咽燥, 主要用于治疗急、慢性咽炎^[1]。目前《中国药典》中金果含片主要采用高效液相色谱法测定陈皮中橙皮苷的含量。本文建立了高效毛细管电泳测定金果含片中橙皮苷的含量, 为更好控制金果含片质量提供了依据。

1 仪器与试剂

HP^{3D}CE 型高效毛细管电泳仪 (安捷伦公司),

50 μm × 75 cm 的空心石英毛细管柱, 有效长度为 66.7 cm; DAD 检测器, 安捷伦化学工作站, 自动进样器。

橙皮苷对照品 (批号 110710-200709) 购自中国药品生物制品检定所。金果含片 (江西南昌济生制药厂, 批号 100814, 100623, 100927)。甲醇为色谱纯, 水为双蒸水。硼砂、盐酸、氢氧化钠为分析纯。

2 方法与结果

2.1 电泳条件 运行缓冲液为 25 mmol·L⁻¹ 硼砂缓冲溶液 (pH 10.0), 柱温 25 °C, 分离电压 20 kV, 压力进样 0.5 psi × 10 s, 检测波长为 283 nm。样品溶液和运行缓冲液均经过 0.45 μm 微孔滤膜过滤。毛细管柱在使用前依次用双蒸水、0.1 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液、双蒸水、缓冲液各冲洗 5 min。2 次进样之间依次用 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液、双蒸水、缓冲

[收稿日期] 20111228(008)

[通讯作者] * 霍天凤, 副主任药师, 从事药物分析, Tel: 1393913955, T-mail: htfengzj@163.com

液冲洗 2 min。

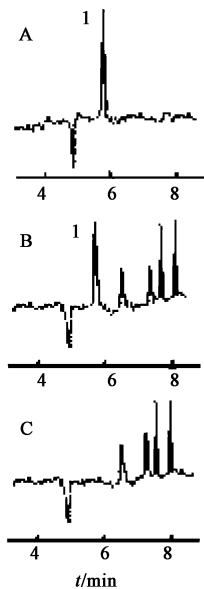
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷适量置于 25 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并定容配成 $0.4764 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液,精密吸取对照品储备液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,甲醇定容得质量浓度为 $0.0476 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取金果含片 20 片,精密称定,研细,取约 1 g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇 20 mL,加热回流到提取液无色,放冷,提取液转移至 25 mL 量瓶中,用少量甲醇分次洗涤容器,洗液并入同一量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀, $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按照金果含片的处方比例和生产工艺制备缺陈皮的阴性样品,按照 2.2.2 项下的方法制成阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液,按照 2.1 项下色谱条件,分别进样分析,记录色谱图,结果供试品溶液和对照品溶液色谱图有 1 个保留时间相同的特征峰,阴性样品在相同的保留时间处无此特征峰,表明金果含片其他成分对橙皮苷的测定没有干扰,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 橙皮苷

图 1 毛细管电泳色谱图

2.4 线性关系 精密量取对照品储备液 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mL 于 10 mL 量瓶中,加缓冲液稀释至刻度,摇匀,得不同浓度系列溶液,按选定的电泳条件进样测定。以浓度 (X) 为横坐标,峰面积的积分值 (Y) 为纵坐标作回归分析,结果显示橙皮苷在

$0.0238 \sim 0.1429 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好,回归方程为 $Y = 0.874X + 0.143$ ($r = 0.9998$)。

2.5 稳定性试验 取同一批供试品溶液,室温放置,于 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 进样测定,计算供试品中橙皮苷峰面积值 RSD 1.12%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6 精密度试验 取浓度为 $0.0476 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品标准溶液,压力进样,连续测定 6 次,记录峰面积。结果橙皮苷峰面积积分值 RSD 1.04%。表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批供试品(批号 100814),按照 2.2.2 项下方法分别制备 6 份供试品溶液,进行测定,记录峰面积。计算供试品中橙皮苷含量 $0.987 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.31%,表明此法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的同一批供试品(批号 100814,橙皮苷含量为 $0.987 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 6 份,每份约 0.5 g,精密称定,每份分别精密加入橙皮苷对照品储备液 1 mL。按 2.2.2 项下方法处理并进样测定,计算回收率,结果见表 1。橙皮苷的平均回收率为 99.57%, RSD 1.03%。

表 1 金果片中橙皮苷加样回收率试验 ($n = 6$)

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.5003	0.4938	0.4764	0.9701	99.98	99.57	1.03
0.5006	0.4941	0.4764	0.9680	99.47		
0.5011	0.4946	0.4764	0.9716	100.12		
0.5007	0.4942	0.4764	0.9657	98.98		
0.5004	0.4939	0.4764	0.9705	100.04		
0.5009	0.4944	0.4764	0.9652	98.83		

2.9 样品测定 取金果含片样品 3 批,按照 2.2.2 方法制备供试品溶液,进样测定,计算样品中橙皮苷的含量,同时参照《中国药典》2010 年版“金果含片”^[1]项下 HPLC 法测定样品含量,结果见表 2。

表 2 金果含片样品成分测定

批号	HPCE		HPLC	
	橙皮苷 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%	橙皮苷 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
100814	0.987	0.87	0.989	0.98
100623	0.994	1.03	0.993	1.21
100927	0.996	0.69	0.997	0.96

3 讨论

3.1 背景电解质溶液的选取 比较了磷酸二氢钠-磷酸氢二钠、氢氧化钠与硼砂、硼酸-硼砂、柠檬酸-柠檬酸钠等几种缓冲液体系对橙皮苷分离效果的影响。结果柠檬酸-柠檬酸钠体系中,橙皮苷不出峰。磷酸二氢钠-磷酸氢二钠体系中,灵敏度低,并出现拖尾现象。氢氧化钠与硼砂体系中,橙皮苷出峰较慢。硼酸-硼砂体系中,噪音小,峰形好,灵敏度高,因此选择硼砂溶液作为运行缓冲液。

比较了 10, 15, 20, 25, 30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼砂缓冲溶液对橙皮苷的分离的影响,结果发现浓度过低(10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)橙皮苷不能达到基线分离,峰形不稳定^[2]。浓度过高(30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),分离有所改善,但同时电流也增大,保留时间也增加,当浓度 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,基线达到分离,峰形较好,综合分离情况、分析时间,确定硼砂的浓度为 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时。

3.2 缓冲溶液 pH 的影响 pH 能改变溶质的表观电荷数,从而影响各组分在缓冲液中的迁移行为^[3]。试验考察了 pH 分别为 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0 的硼砂溶液对橙皮苷分离的影响。结果显示, pH 较小(≤ 10.0),样品峰重叠严重,分离度较差,无法完全分离,当 pH 过高(pH 11.5)时,基线噪音比较大,样品检测的灵敏度下降,当 pH 为 10.0 时,分离度和灵敏度最佳,且噪音不大,因此选定 pH 为 10.0。

3.3 分离电压的影响 加大毛细管柱两端的电泳

电压能够缩短分析时间^[4],考察了 10 ~ 30 kV 分离电压对橙皮苷分离的影响。结果发现,随着分离电压的增大,橙皮苷的分离度和灵敏度加大,迁移时间变短,过了极点,随着电压升高,焦耳热的影响加大^[5]。综合考虑电压对迁移时间和柱效的影响,选择分离电压为 20 kV。

4 结论

用高效毛细管电泳测定金果含片中橙皮苷的含量,简便快速,结果准确,与高效液相色谱比较,具有消耗试剂少,测试费用低,噪音小,不用有毒试剂,不污染环境等优点,适用于金果含片的质量控制。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:826.
- [2] 王晓可,毋福海.毛细管电泳法测定栀子金花丸中盐酸小檗碱和绿原酸[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):86.
- [3] 高苏亚.高效毛细管电泳方法研究及其在中药分析中的应用[D].西安:西北大学,2007.
- [4] 王青虎,奥乌力吉,包建华.高效毛细管电泳法同时测定小白蒿 5 种黄酮类化合物的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(16):63.
- [5] 黄宝美,姚程炜,莫金垣,等.快速毛细管电泳安培法测定京尼平甘和藏红花素的含量[J].中山大学学报:自然科学版,2011,50(5):83.

[责任编辑 顾雪竹]