

高效液相色谱法同时测定复方维生素咀嚼片中维生素 B₁、B₂ 及 B₆ 的含量

★ 孙萍¹ 刘辉¹ 李治光¹ 张文惠² (1. 江中药业股份有限公司 南昌 330096; 2. 江西中医学院 南昌 330006)

关键词: 维生素 B₁; 维生素 B₂; 维生素 B₆; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R 927.2 文献标识码: B

复方维生素咀嚼片主要成分为对维生素 C、维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆、L-半胱氨酸、葡萄糖酸锌、中药提取物等, 具有促进排铅作用。目前维生素 B₁、维生素 B₂ 及维生素 B₆ 的测定方法分别采用荧光分光光度法及微生物法, 操作过程繁琐、费时, 不利于生产过程中产品的质量控制。笔者研究并建立了反相高效液相色谱法同时测定该产品中维生素 B₁、维生素 B₂ 及维生素 B₆ 三种成分的含量, 方法简便、快捷, 结果准确、可靠。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Agilent 1200; 维生素 B₁、维生素 B₂ 及维生素 B₆ 对照品由 Sigma 公司提供; 试剂: 甲醇, 色谱纯, 其余均为分析纯; 复方维生素咀嚼片样品, 由江中药业股份有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱仪: Agilent 1200 型; 色谱柱: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 4.6 mm × 150 mm; 检测波长: 280 nm; 流速: 1.0 mL/min; 流动相: 甲醇-0.03% 戊烷磺酸钠与 0.03% 己烷磺酸钠混合溶液(内含 1% 乙酸) = 30: 70。

2.2 测定方法 取本品 10 片, 研细, 精密称取细粉约 0.3 g, 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇-1% 乙酸(30:

70) 溶液, 超声溶解, 冷却到室温, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取经 105 °C 干燥至恒重的维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 对照品, 同法测定, 按外标法, 以其相对应的峰面积计算三组分的含量。

2.3 线性关系的考察 取维生素 B₁ 对照品溶液(浓度为 3.266、6.532、9.798、13.064、16.330 μg/mL); 维生素 B₂ 对照品溶液(浓度为 1.682、3.364、5.046、6.728、8.410 μg/mL), 维生素 B₆ 对照品溶液(浓度为 3.830、6.128、7.660、9.192、11.790 μg/mL), 按上述色谱条件测定峰面积, 以浓度为横坐标, 各自对应的峰面积为纵坐标作线性回归, 维生素 B₁ 的线性回归方程为 $A = 39.807C - 1.0304$, $r = 0.9999$, 线性范围为 3.266 ~ 16.330 μg/mL; 维生素 B₂ 的线性回归方程为 $A = 46.44C - 0.6818$, $r = 0.9999$, 线性范围为 1.682 ~ 8.410 μg/mL; 维生素 B₆ 的线性回归方程为 $A = 39.761C + 3.2021$, $r = 0.9999$, 线性范围为 3.830 ~ 11.790 μg/mL。

2.4 重复性试验 取维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 同一对照液, 连续进样 5 次, 每次 20 μL, 维生素 B₁ 峰面积测量值的 RSD 为 0.13%, 维生素 B₂ 峰面积测量值的 RSD 为 0.54%, 维生素 B₆ 峰面积测量

致使薄层板上色谱斑点拖尾较明显。改进后方法延长加热回流时间, 使西洋参中皂苷类成分在甲醇中溶出更充分, 采取氧化铝吸附色谱的方法, 去除水溶性和糖类杂质。使皂苷类成分更趋纯净。改用羧甲基纤维素钠硅胶 G 薄层板, 使展开剂极性更适合于各成分的分离, 最终得到色谱斑点清晰, 利于准确判断结果, 此方法特别适合于大、中型医药零售连锁公司, 为鉴别不同条件下生长的西洋参和简化供试液

配制方法提供了参考依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京化学工业出版社, 2005, 99-100.
- [2] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典中药薄层色谱彩色图集[M]. 广州: 广东科技出版社, 1998, 132-135.

(收稿日期: 2008-11-23 责任编辑: 曹征)

HPLC 法测定糖尿乐胶囊中葛根素的含量

★ 王丽静 利家平 (江西省药物研究所 南昌 330029)

摘要:目的:建立糖尿乐胶囊的含量测定方法。方法:采用十八烷基硅烷键合硅胶柱(Hypersil BDS, 5 μ m, 4.6 mm $\times$ 200 mm);流动相:甲醇-水(25:75);流速 1 mL/min;检测波长 250 nm。结果:葛根素进样量在 0.084 0 μ g ~ 0.700 0 μ g 范围内线性关系良好 $r=0.999\ 9$ ($n=5$);平均加样回收率为 100.05%, RSD 为 1.70% ($n=6$)。结论:本方法操作简便、快速、准确;可以作为糖尿乐胶囊的含量测定方法。

关键词:糖尿乐胶囊;葛根素;含量测定;HPLC

中图分类号:R 927.2 **文献标识码:**B

糖尿乐胶囊为《中华人民共和国卫生部药品标准 中药成方制剂》第 13 册收载的品种^[1],为治疗糖尿病常用的中药复方制剂。由葛根、红参、山药、天花粉、鸡内金、生地、黄芪、山茱萸、枸杞、五味子、知母、天冬、茯苓等十三味药材组成。功能:滋阴补肾,益气润肺,和胃生津,调节代谢机能。用于消渴症引起的多食、多饮、多尿,四肢无力等症,降低血糖、尿

糖。原标准中只有定性鉴别,无含量测定项。为了更好的控制本品质量,本文采用 HPLC 方法测定了处方中主要成分葛根中葛根素的含量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:大连依利特 P200 II 高压恒流泵,UV200 II 紫外可变波长检测器,HW-2000 型色谱工作站;葛根素对照品:购于中国药品生物制品检定

值的 RSD 为 0.54%。

2.5 精密度试验 精密称取同一批号样品 5 份,照上述含量测定法测定含量,维生素 B₁ 含量 $RSD=0.20\%$,维生素 B₂ 含量 $RSD=1.7\%$,维生素 B₆ 含量 $RSD=0.48\%$ 。

2.6 溶液稳定性考察 取同一份样品溶液,分别于 0、2、4、6、8 小时进行测定,精密量取不同时间的溶液进样,测得维生素 B₁ 峰面积 $RSD=0.22\%$,维生素 B₂ 峰面积 $RSD=0.18\%$,维生素 B₆ 峰面积 $RSD=0.05\%$ 。结果表明,样品溶液 8 小时内稳定。

2.7 方法专属性试验 通过对主成分及降解产物按上述 HPLC 法进行分离检测,结果表明采用上述 HPLC 法测定维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 含量的方法专属性良好。另取其他原料及辅料适量,按处方配成空白溶液,同法操作,结果表明,其他原辅料对该三组份含量测定无干扰。

2.8 方法定量限 三种组分用同一系统进行测定,在选定的色谱条件下,以基线噪音的 10 倍为最低定量限。维生素 B₁ 的定量限为 25.53 ng,维生素 B₂ 的定量限为 7.56 ng,维生素 B₆ 的定量限为 3.98 ng。

2.9 方法回收率考察 分别精密称取维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 对照品适量,同时按处方比例加入其它组份及辅料制成含量测定浓度的 80%、100%、120% 溶液各三份,另取维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 对照品同法制成对照品溶液。分别精密量取上述溶液 20 μ L,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以各自对应的峰面积计算含量测定方法回收率。结果维生素 B₁ 平均回收率为 99.8% ($RSD=0.52$, $n=9$);维生素 B₂ 平均回收率为 99.6% ($RSD=0.44$, $n=9$);维生素 B₆ 平均回收率为 100.3% ($RSD=0.49$, $n=9$)。

2.10 样品含量测定结果 按上述含量测定方法测定三批复方维生素咀嚼片样品中维生素 B₁、维生素 B₂ 及维生素 B₆ 的含量,结果见表 1。

表 1 维生素 B₁、B₂ 及 B₆ 含量测定结果/ $g \cdot 100g^{-1}$

批号	080813	080820	080911
维生素 B ₁	128.9	128.4	127.6
维生素 B ₂	62.22	65.1	64.7
维生素 B ₆	124.8	135.2	134.4

(收稿日期:2008-12-08 责任编辑:查青林)