参考文献

[1] 王建梅.氯化钾控释片溶出度考察[J].苏州医学院学报,1998,18(7):677-678.

[2] 陈立,陈宇星,朱兆林.不同厂家氯化钾缓释片体外释放度的对比研究[J].海峡药学,2012,24(9):13-14.

[3] 王青青,贾琳,卫中华,等.琥珀酸美托洛尔缓释片溶出曲线对比研究[J].中国处方药,2018,16(7):36-37.

[4] 雷炜,彭龙,陶敏,等.格列齐特片的制备工艺和溶出一致性评价[J].药物评价研究,2018,41(5):821-827.

[5] 宫艺杰,刘锐玲,闫长林,等.枸橼酸莫沙必利片四条体外溶出曲线的测定[J].中国药物与临床,2018,18(7):1143-1145.

[6] 国家药典委员会.中国药典(二部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:1376.

[7] 谢沐风.溶出曲线相似性的评价方法[J].中国医药工业杂志,2009,40(4):308-311.

[8] 赵嘉兰,王悦敏,秦凌浩.泮托拉唑钠肠溶片溶出度测定方法学验证[J].广东化工,2018,45(3):10-11.

[9] 马玲,王曼泽,朱捷,等.阿苯达唑片多条溶出曲线的研究和测定[J].中国药学杂志,2018,53(24):2123-2126.

[10] 张银龙,汤继辉,李巧霞,等.帕博西尼胶囊的制备及体外溶出评价[J].安徽医药,2019,23(3):465-472.

[11] 卢会芬,任军乐,王瑞强,等.盐酸安非他酮缓释片处方筛选及体外释放评价[J].安徽医药,2016,20(8):1458-1461.

(收稿日期:2019-04-25,修回日期:2019-06-18)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2020.08.007

◇药物分析◇

高效液相色谱-二极管阵列检测器法测定复合维生素B片中5种组分的溶出度

纪世彬

作者单位:上海市青浦食品药品检验所检验室,上海201799

摘要:目的 建立高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)法同时测定复合维生素B片中的5种有效成分的溶出度。**方法** 采用Waters XBridge C_{18}色谱柱,以5 mmol/L庚烷磺酸钠水溶液(含0.15%三乙胺,用冰醋酸调节pH值至5.0)为流动相A,乙腈为流动相B,流速为1.0 mL/min,梯度洗脱,柱温35 ℃,维生素B_1、维生素B_2、维生素B_6和烟酰胺的检测波长为280 nm,泛酸钙的检测波长为210 nm。**结果** 维生素B_1、维生素B_2、烟酰胺、维生素B_6和泛酸钙分别在9.46~47.29、7.97~39.83、39.92~199.60、1.21~6.04、3.84~19.22 μg/mL范围内线性关系良好,r均大于0.999。5种组分的回收率在94.3%~102.7%之间,RSD≤2.0%。**结论** HPLC-DAD法同时测定复合维生素B片中的5种有效成分的溶出度可为复合维生素B片的质量控制提供参考。

关键词:复合维生素B/分析; 高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)法; 回收率; 溶出度

Determination of dissolution rate of five components in compound vitamin B tablets by HPLC-DAD

JI Shibin

Author Affiliation:Testing Laboratory,Shanghai Qingpu Institute for Food and Drug Control,Shanghai 201799,*China*

Abstract:Objective To establish a method for simultaneous determination of dissolution rate of five effective components in compound vitamin B tablets by HPLC-DAD.**Methods** Waters XBridge C_{18} was used.Mobile phase A is 5 mmol/L sodium heptanesulfonate solution (containing 0.15% Triethylamine,adjusted pH to 5.0 with glacial acetic acid),Mobile phase B is acetonitrile.The flow rate was 1.0 mL/min.Column temperature was 35℃.The UV detection wavelength of vitamin B_1,vitamin B_2,vitamin B_6 and nicotinamide was 280 nm,and the UV detection wavelength of calcium pantothenate was 210 nm.**Results** The linear ranges of vitamin B_1,vitamin B_2,nicotinamide,vitamin B_6 and calcium pantothenate were 9.46-47.29,7.97-39.83,39.92-199.60,1.21-6.04,and 3.84-19.22 μg/mL,respectively,and r was greater than 0.999.The recovery rates of the five components ranged from 94.3% to 102.7%,and RSD≤2.0%.**Conclusion** HPLC-DAD method for simultaneous determination of the dissolution rate of five active ingredients in compound vitamin B tablets can provide a reference for the quality control of compound vitamin B tablets.

Key words: Vitamin B compound/analysis; HPLC-DAD; Retrieving rate; Dissolution rate

药物的溶出度检查是对工艺水平和制剂品质的一种有效的评价手段,可以反映药物的生产工艺、处方组成、晶型、粒度和辅料品种等的差异,也是有效评价制剂均匀度、活性成分和生物利用度的

标准。溶出度作为体外实验相较生物利用度而言简单易行,作为质量控制的指标,不失为一个经济有效的手段[1]。复合维生素B片由泛酸钙、维生素B_1、烟酰胺、维生素B_2、维生素B_6五种有效成分加工而成,临床用于治疗和预防由B族维生素缺乏所导致的各种疾病,现行的质量标准《卫生部颁药品标准》化学药品及制剂第一册WS_1-73(B)-89中仅规定了崩解时限检查项[2],但崩解时限检查不能全面反映药物在体内的溶出情况,本研究自2018年7月至2019年1月建立的方法为考察复合维生素B片中5种维生素的体内溶出情况提供了一种客观的标准[3-5]。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Waters 2695高效液相色谱仪(配2996型二极管阵列检测器)、BP211D电子天平(德国赛多利斯公司)、ZRS-8G智能溶出试验仪(天津天大天发科技有限公司)。

1.2 试剂和药品 烟酰胺(批号:100115-200703,含量:99.9%,100毫克/支)、维生素B_1(批号:100390-201304,含量:97.0%,100毫克/支)、维生素B_2(批号:100369-201504,含量:98.2%,100毫克/支)、泛酸钙(批号:100370-200301,含量:100%,100毫克/支)、维生素B_6(批号:100116-201103,含量:100%,100毫克/支)均购自中国食品药品检定研究院。复合维生素B片①(南京白敬宇制药有限责任公司,生产批号180102);复合维生素B片②(上海新黄河制药有限公司,生产批号02418002);乙腈、庚烷磺酸钠(色谱纯),冰乙酸、三乙胺(分析纯),盐酸(优级纯),水(超纯水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Waters XBridge C_{18}色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);以5 mmol/L庚烷磺酸钠水溶液(含0.15%三乙胺,用冰醋酸调节pH值至5.0)为流动相A,以乙腈为流动相B;梯度洗脱:0~4 min,95% A;4~15 min,95%~80% A;15~20 min,80%~95% A;20~25 min,95% A;流速:1.0 mL/min;进样量:50μL;柱温:35℃;检测波长:280 nm(烟酰胺、维生素B_2、维生素B_6和维生素B_1),210 nm(泛酸钙)。

2.2 溶液的配置

2.2.1 *对照品溶液* 精密称取维生素B_1对照品、维生素B_2对照品、维生素B_6对照品、及泛酸钙对照品各10 mg,分别置于20、100、100、100 mL容量瓶,加0.005 mol/L盐酸溶解并稀释至刻度。摇匀,作为对照品贮备液(1)、(2)、(3)、(4)。精密取烟酰胺对照品10 mg,置50 mL容量瓶中,精密加入对照品贮备液(1)5 mL、(2)20 mL、(3)3 mL、(4)10 mL,加0.005 mol/L盐酸溶解并稀释至刻度。

2.2.2 *供试品溶液* 按《中华人民共和国药典》2015年版四部通则0931第三法操作,以0.005 mol/L盐酸100 mL为溶出介质,于(37±0.5)℃条件下,转速为100 r/min,于20 min取样1 mL,立即经0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液,依法测定,计算累计溶出百分率。

2.3 检出限试验及线性关系 分别精密吸取"2.2.1"项下对照品溶液2、4、6、8及10 mL分别置10 mL量瓶中,加0.005 mol/L盐酸稀释至刻度,摇匀。取50 μL注入液相色谱仪,按"2.1"项下色谱条件进样分析,测定峰面积。结果以峰面积y为纵坐标,以各组分的浓度x为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程。同时分别以信噪比约为10∶1和3∶1时的浓度作为定量限和检测限。结果见表1。

2.4 精密度试验 精密吸取标准曲线三号浓度梯度标准溶液50 μL,注入液相色谱仪,连续6次进样测定峰面积,分别计算RSD。结果维生素B_1、维生素B_2、烟酰胺、维生素B_6、泛酸钙的RSD分别为0.18%、0.10%、0.51%、0.65%、0.66%。

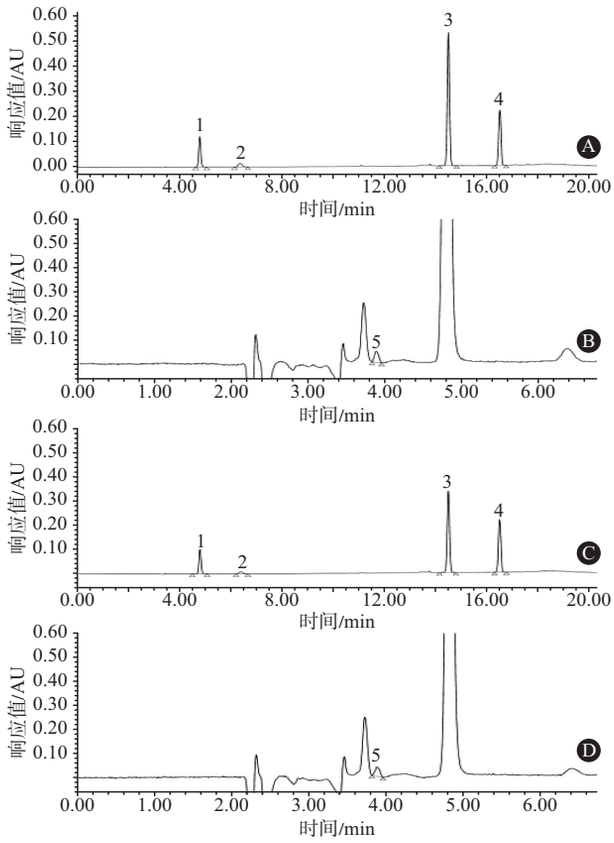
2.5 稳定性试验 取复合维生素B片②20 min时的供试品溶液①,分别于室温下放置0、2、4、6、8、12 h后进样测定。结果显示,维生素B_1、维生素B_2、烟酰胺、维生素B_6、泛酸钙色谱峰面积的RSD分别为0.25%、0.17%、0.50%、0.45%、0.82%。

2.6 加样回收试验 在溶出杯中按配方加入复方维生素B片②的辅料,取维生素B_1、维生素B_2、维生素B_6与泛酸钙对照品配置成每毫升各含500、450、50与200 μg的混合溶液,分别取2、5、8 mL各3份,置于溶出杯中;取烟酰胺对照品配置成每毫升含

表1 回归方程、检测限和定量限

待测成分	回归方程	r值	线性范围/(μg/mL)	检测限/(μg/mL)	定量限/(μg/mL)
维生素B_1	$y=7.361\,482e^3x+5.3014\,72e^4$	0.999 9	9.46~47.29	0.049	0.16
维生素B_2	$y=5.190\,540e^4x+1.426\,750e^5$	0.999 9	7.97~39.83	0.031	0.10
维生素B_6	$y=1.46\,4424e^3x+4.414\,284e^4$	0.999 8	1.21~6.04	0.100	0.32
烟酰胺	$y=1.057\,432e^4x+5.885\,625e^3$	0.999 9	39.92~199.60	0.400	1.33
泛酸钙	$y=-7.567\,359e^3x+1.657\,881e^4$	0.999 9	3.84~19.22	0.700	2.10

1 mg的溶液,分别取5、10、15 mL各3份,置于上述溶出杯中,每个溶出杯加入0.005 mol/L盐酸至100 mL,按“2.2.2”项下的方法,记录色谱图见图1,由结果可知,维生素B_1、维生素B_2、烟酰胺、维生素B_6、泛酸钙的平均回收率分别为98.0%、98.7%、99.2%、96.0%、95.5%;RSD分别为0.45%、0.40%、0.19%、0.85%、0.90%($n=9$)。表明该方法回收率良好。



注:1为烟酰胺,2为维生素B_6,3为维生素B_2,4为维生素B_1,5为泛酸钙

图1 各成分的高效液相色谱图:A为对照品溶液280 nm,B为对照品溶液210 nm,C为样品溶液280 nm,D为样品溶液210 nm

3 讨论

3.1 检测波长的选择 利用DAD检测器,在各个波长处测定各个组分的吸收,确定最大吸收波长,同时兼顾各个组分定量测定的需要,最后选择280 nm作为维生素B_1、维生素B_2、烟酰胺、维生素B_6的测定波长,选择210 nm作为泛酸钙的测定波长。

3.2 流动相的选择 流动相中加庚烷磺酸钠,和一定量三乙胺是为了改善组分的峰型和保留时间以及消除拖尾,试验过程中发现pH值对维生素B_1和维生素B_2峰的保留时间也有影响,过低过高都不能达到理想的色谱分离或者总时间。由于泛酸钙检测波长为210 nm,考虑到甲醇的截止波长为205 nm,故有机相确定为乙腈。经反复试验,最后将流动相优化成为5 mmol/L庚烷磺酸钠水溶液(含0.15%三乙胺,用冰醋酸调节pH值至5.0)为流动相A,乙腈为流动相B,梯度洗脱。

3.3 溶出度取样时间及溶出介质的选择 根据“2.2.2”项下方法,分别以50和100 r/min的转速,以水、0.1 mol/L盐酸溶液和0.005 mol/L盐酸溶液,于10、20、30、45、60 min取样1 mL(同时补充预热至37 ℃的溶出介质1 mL),测定溶出百分率。根据测定结果,在水中泛酸钙的溶出量偏低;在0.1 mol/L盐酸溶液中,各组分的溶出量都偏低;在0.005 mol/L盐酸溶液中50 r/min时在45 min时5种维生素的溶出率都达到95%以上;100 r/min时在20 min时5种维生素的溶出率都达到95%以上。综合以上结果,选择100 r/min,取样时间为20 min的溶出条件。因维生素B_2对光较敏感,见光易分解,故应避光操作。

4 结论

本方法准确,简便,可作为现行质量标准的补充,测定复合维生素B片中五种维生素的溶出度,更全面评价该制剂的质量。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:通则121-124.

[2] 国家药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:化学药品及制剂(第一册)[S].北京:国家药典委员会,1989:94.

[3] 张媛媛,丁大中.超高效液相色谱法测定复合维生素B片中4种成分的含量[J].药学研究,2017,36(6):327-329.

[4] 葛雪松,庄航,孙桐,等.不同厂家复合维生素B片中维生素B_2的溶出度考察[J].中国医药指南,2012,10(27):42-43.

[5] 徐硕,徐文峰,金鹏飞,等.HPLC法同时测定复合维生素B片中5种维生素的含量[J].中国药师,2018,21(1):177-180.

[6] 徐硕,金鹏飞,邝咏梅,等.HPLC法测定复合维生素B片中的微量叶酸、维生素B_{12}和生物素[J].药物分析杂志,2018,38(6):1091-1097.

[7] 胡晓琴,韩春.HPLC-DAD法测定复合维生素B片中5种组分的含量[J].长治学院学报,2018,35(2):26-29.

[8] 李克,王华娟,潘朝晖,等.离子对反相高效液相色谱法同时测定复合维生素片中4种水溶性维生素[J].色谱,2003,21(1):66-68.

[9] 吴芳,徐红艳.HP LC法测定复合维生素B 片中四种成分的含量[J].中国医药导报,2007,4(31):95-96.

[10] 殷江临,谢在根.复合维生素B合剂中维生素B_2溶解方法的改进[J].中国药事,2000,14(3):205.

(收稿日期:2019-03-22,修回日期:2019-05-10)