

HPLC 测定复方新斯的明眼用凝胶中维生素 B₆ 的含量和有关物质

夏苗芬^{1a,2}, 袁京群^{1b}, 李士敏^{1a}, 王华^{1b}, 梁文权^{1a} (1. 浙江大学, a. 药学院, b. 分析测试中心, 杭州 310029; 2. 浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100)

摘要:目的 建立复方新斯的明眼用凝胶中维生素 B₆ 与有关物质的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)。流动相: 醋酸三乙胺溶液。检测波长: 290 nm。结果 线性范围为 1 ~ 50 μg · mL⁻¹, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。低、中、高三个浓度回收率为 (100.59 ± 0.57)%, (100.97 ± 0.38)%, (102.20 ± 0.06)%。结论 本方法简便快速、专属性好、重复性好、易操作。

关键词: 维生素 B₆; 眼用凝胶; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R917.793

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693 (2009) 01-0063-03

Determination of Vitamin B₆ and Its Related Substances in Compound Neostigmine Ophthalmic Gel by HPLC

作者简介: 夏苗芬, 女, 硕士, 讲师

Tel: (0574) 88222780

E-mail: xiamf@mail.zjpc.net.cn

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determining the content of vitamin B₆ and related substances. **METHODS** A eclipse XBD-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used, and the mobile phase (1 000 mL) consisted of 0.34 g sodium acetate, 8.25 mL ice acetic acid and 5 mL triethylamine. The detective wavelength was 290 nm. **RESULTS** An excellent linearity ($r=0.999\ 9$, $n=5$) was obtained over the range of 1-50 μg · L⁻¹, the recovery of low, medium and high concentration level was (100.59 ± 0.57)%, (100.97 ± 0.38)% and (102.20 ± 0.06)%, respectively. **CONCLUSION** This method is sensitive, specific, reproducible and easy to process.

KEY WORDS: vitamin B₆; ophthalmic gel; related substances; HPLC

复方新斯的明眼用凝胶主要由甲硫酸新斯的明、牛磺酸、维生素 B₆、马来酸氯苯那敏等组成,为抗胆碱酯酶药、抗组胺药、解热镇痛药和维生素 B₆ 的复方制剂,主要用于治疗儿童及青少年视疲劳等症。维生素 B₆ 化学名为 6-甲基-5-羟基-3,4-吡啶二甲醇盐酸盐。在体内经转变为氨基酸的转氨酶和脱羧酶的辅酶而起作用,对于保持身体及神经系统处于正常状况,维持体内钠、钾成分平衡等有重要作用。笔者采用高效液相色谱法,建立了维生素 B₆ 的含量测定方法,并对有关物质予检测。本方法准确,简便、专属性强、重复性好,可用于复方新斯的明眼用凝胶的含量测定和有关物质检查。

1 仪器与试药

1.1 仪器与试药

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,维生素 B₆ 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 050225),维生素 B₆ 原料药由咸宁京汇药业有限公司提供,样品批号为 20061022,复方新斯的明眼用凝胶(本实验室自制),三乙胺和冰醋酸为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相:醋酸三乙胺溶液(取醋酸钠 0.34 g,加水适量使溶解,加冰醋酸 8.25 mL,加三乙胺 5 mL,加水稀释至 1 000 mL 即得)。流速:1.0 mL · min⁻¹;波长:290 nm。在上述条件下,维生素 B₆ 与其有关物质实现基线分离,理论塔板数以维生素 B₆ 计算不低于 4 000。

2.2 测定方法

供试品溶液的制备:精密称取复方新斯的明眼用凝胶适量,置 50 mL 量瓶中(约相当于维生素 B₆ 10 μg · mL⁻¹),加适量蒸馏水振摇使溶解,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。取维生素 B₆ 的空白制剂同法进行配制,作为空白溶液。

对照品溶液的制备:精密称取维生素 B₆ 对照品约 10 mg 置 100 mL 量瓶中,加蒸馏水适量振摇使溶解,并稀释至刻度,作为对照品储备液。精密量取此储备液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

分别取上述供试品溶液、空白溶液和对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,按外标法以峰面积计算维生素 B₆ 的含量。色谱图见图 1A ~ C。

2.3 专属性考察

取复方新斯的明眼用凝胶适量,分别在下述条件下进行试验:①碱破坏:加 2 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液适量使溶解,水浴加热 2 h,放冷,加酸中和,加蒸馏水至规定体积,作为碱降解产物溶液;②酸破坏:加 2 mol · L⁻¹ 盐酸溶液适量使溶解,水浴加热 2 h,放冷,加碱中和,加蒸馏水至规定体积,作为酸降解产物溶液;③高温破坏:沸水浴加热 2 h,放冷,加蒸馏水至规定体积,作为高温破坏降解产物溶液;④光破坏:4 500 lx 强光下照射 7 d,加蒸馏水至规定体积,作为光破坏降解产物溶液;⑤氧化破坏:加过氧化氢适量,水浴加热 2 h,放冷,加蒸馏水至规定体积,作为氧化破坏降解产物溶液。取①~⑤样品,按“2.1”项下色谱条件进样,色谱图见图 1D ~ H,图中各杂质峰与主峰均有很好的分离。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”项下对照品储备液 0.1, 0.5, 1, 2, 5 mL 置 10 mL 量瓶中,加蒸馏水至刻度,制成不同质量浓度的对照品系列溶液,进样 20 μL,以峰面积 A 对质量浓度 C (μg · mL⁻¹) 进行线性回归,线性方程为 $A=40.32C+0.41$, $r=0.999\ 9$ ($n=5$),结果表明在 1 ~ 50 μg · mL⁻¹ 内质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。检测限为 0.2 ng,定量限为 0.5 ng (RSD 为 0.37%)。

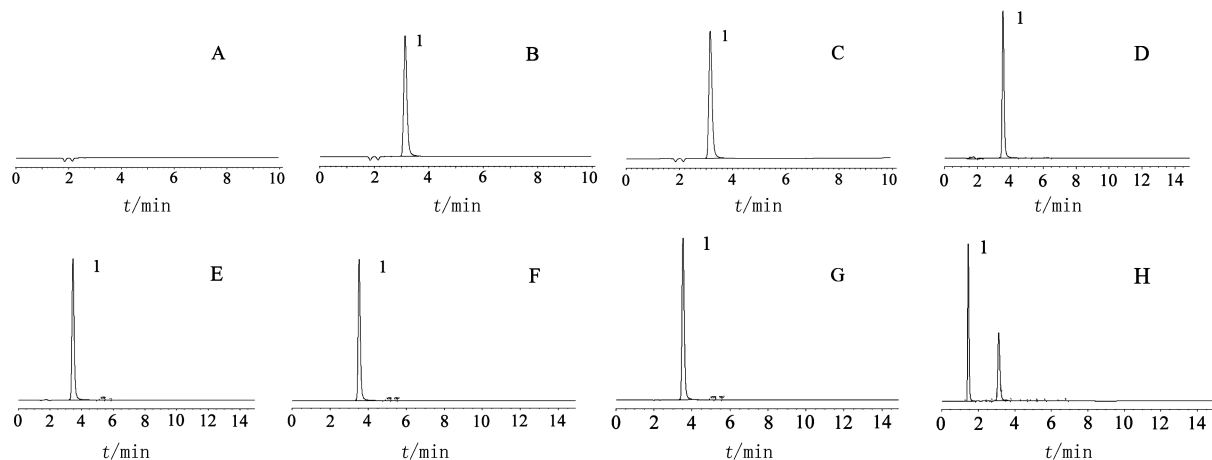


图1 维生素B₆色谱图

A-空白制剂;B-标准对照;C-样品制剂;D-碱破坏;E-酸破坏;F-高温破坏;G-光照破坏;H-氧化破坏;1-维生素B₆的峰

Fig 1 Chromatogram of Vitamin B₆

A-excipients; B-reference; C-sample; D-destroyed by alkali; E-destroyed by acid; F-destroyed by heating; G-destroyed by light; H-destroyed by oxidation; 1-the peak of vitamin B₆

2.5 重复性试验

取复方新斯的明眼用凝胶(批号070421),照“2.2”项下的方法制备供试品6份,照“2.1”项下色谱条件测定精密度,结果RSD为0.09%,说明本方法的重复性较好。

2.6 溶液稳定性试验

取供试品溶液分别放置0,1,2,4,8,24 h后各进样20 μL,测定峰面积,结果RSD为0.69%,表明样品溶液在室温条件下24 h内稳定。

2.7 回收率试验

按处方标示量的80%、100%、120%三种浓度的维生素B₆对照品各5份,分别加入缺维生素B₆的空白制剂中,按“2.2”方法制备样品。进样20 μL,记录峰面积,并计算回收率,结果每个浓度的回收率依次为(100.59 ± 0.57)%, (100.97 ± 0.38)%, (102.20 ± 0.06)%。

2.8 样品含量测定

按“2.2”项下制备供试品溶液和对照品溶液,依法测定峰面积,按外标一点法计算含量,结果见表1(n=3)。

2.9 样品有关物质检查

精密称取本品1 g(约相当于维生素B₆1 mg),加水稀释制成每1 mL中约含维生素B₆100 μg的溶液作为供试品溶液;精密量取上述供试品溶液1.0 mL,加水制成每1 mL中约含1 μg维生素B₆的溶液,作为自身对照溶液。各20 μL注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的3倍,按不加校正因子的主成分自身对照法以峰面积计算有关物质

的量,结果见表1。

表1 样品含量测定结果

Tab 1 Results of sample determination

批号	样品含量/%	有关物质/%
070421	97.7 ± 0.6	0.28 ± 0.03
070422	97.1 ± 0.7	0.24 ± 0.02
070423	97.4 ± 0.6	0.20 ± 0.03

3 讨论

3.1 曾按照文献报道^[1-2]中的流动相进行尝试,但对本品的分离效果不好,后采用醋酸三乙胺溶液为流动相,取得了较好的分离效果,所采用的流动相中冰醋酸和三乙胺的浓度虽较大,但经测定其pH值为3.96,符合色谱柱所允许的范围。同时,该流动相在测定维生素B₆中未见相关报道,并且比文献报道采用离子对试剂作为流动相更经济,且测定时间短,可运用于批量检测。

3.2 对样品经酸、碱、氧化、高温、光照破坏后的分解产物进行色谱分析,结果表明维生素B₆与其分解产物分离度好,在该色谱条件下,本法专属性强,适用于复方新斯的明眼用凝胶中维生素B₆含量测定,也可用于有关物质的测定。

REFERENCES

- [1] ZHANG J Y, LIAO H W. HPLC determination of melatonin and vitamin B₆ in Mengtuoling tablets [J]. J Guangdong Coll of Pharm(广东药学院学报), 2006, 22(1): 59-60.
- [2] LI Z F, LU X W. HPLC determination of cyclizine hydrochloride, caffeine and vitamin B₆ in compound cyclizine hydrochloride tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2005, 25(2): 241-243.

收稿日期:2008-01-29