

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.22.010

# 高效液相色谱法同时测定维尔康胶囊中3种成分含量

赵猛, 李玲

(江苏省连云港市食品药品检验检测中心, 江苏 连云港 222000)

**摘要:**目的 建立同时测定维尔康胶囊中维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 和甲基橙皮苷含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.1% 磷酸溶液-甲醇(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 270 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 10 μL。结果 维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 和甲基橙皮苷进样量在 0.250~1.502 μg、2.500~15.001 μg、0.500~3.002 μg 范围内与峰面积线性关系良好( $r>0.9990$ ), 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%, 平均加样回收率分别为 101.21%, 98.83%, 102.17%, RSD 分别为 1.47%, 1.60%, 1.06% ( $n=6$ )。结论 该方法操作简便、准确, 精密性、稳定性、重复性好, 可用于同时测定维尔康胶囊中 3 种成分的含量。

**关键词:** 高效液相色谱法; 维尔康胶囊; 维生素 B<sub>1</sub>; 维生素 C; 甲基橙皮苷; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)22-0027-03

## Simultaneous Determination of Three Constituents in Wei'erKang Capsules by HPLC

ZHAO Meng, LI Ling

(Lianyungang Institute for Food and Drug Control, Lianyungang, Jiangsu, China 222000)

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of vitamin B<sub>1</sub>, vitamin C and methyl hesperidin in Wei'erKang Capsules. **Methods** The chromatographic column was Phenomenex Luna C<sub>18</sub> column(200 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.1% phosphoric acid solution-methanol(gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 270 nm, the column temperature was 25 ℃ and the sample size was 10 μL. **Results** The vitamin B<sub>1</sub>, vitamin C and methyl hes-

第一作者: 赵猛, 男, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药品检验, (电子信箱)zhaom202@sina.com。

表 1 加样回收试验结果( $n=9$ )

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.180	0.200	0.162	0.163	0.340	0.364	98.77	100.61				
0.180	0.200	0.162	0.163	0.339	0.364	98.15	100.61				
0.180	0.200	0.162	0.163	0.338	0.363	97.53	100.00				
0.180	0.200	0.202	0.204	0.379	0.403	98.51	99.51				
0.180	0.200	0.202	0.204	0.380	0.403	99.01	99.51	98.22	99.35	0.64	1.12
0.180	0.200	0.202	0.204	0.380	0.404	99.01	100.00				
0.180	0.200	0.243	0.245	0.418	0.440	97.94	97.96				
0.180	0.200	0.243	0.245	0.417	0.440	97.53	97.96				
0.180	0.200	0.243	0.245	0.417	0.440	97.53	97.96				

注: A 为 BHA, B 为 BHT。

统中能得到较好的分离度和峰形; 为将处方中极性较大的成分如水杨酸等先冲洗出系统, 故设计甲醇-水梯度洗脱; 流速采用常用流速 1.0 mL/min; 柱温选择高于药典规定室温(25 ℃), 设定为 30 ℃; 利用甲醇-水系统经过全波长扫描, BHA 和 BHT 在 280 nm 波长处均有较大吸收; 且供试品溶液与对照品溶液中 BHA 和 BHT 保留时间一致的色谱峰紫外吸收图谱一致, 说明无干扰峰, 故设定波长均为 280 nm。该样品性状为澄清液体, 直接滤过后测定发现, 峰面积和峰形均在合理范围内, 设定直接取样品作为供试品溶液。配制对照品选用该样品处方中的 85% 乙醇作为溶剂。

综上所述, 本研究中所建方法的精密性、稳定性、

重复性均较好, 可用于测定复方醋酸曲安奈德溶液中 BHA 和 BHT 的含量。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:1532.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:59-61.
- [3] 张国文, 胡兴, 丁花芳, 等. 国内食品添加剂分析方法研究进展[J]. 分析试验室, 2018, 37(12):1478-1488.
- [4] 靳贵英, 王彩媚, 莫淑萍, 等. HPLC 法同时测定药品塑料包装材料中五种抗氧化剂的含量[J]. 中国医药科学, 2018, 8(7): 62-65.

(收稿日期: 2019-04-14)

peridin showed good linear relationship with the peak area in the ranges of 0.250–1.502  $\mu\text{g}$ , 2.500–15.001  $\mu\text{g}$  and 0.500–3.002  $\mu\text{g}$  ( $r > 0.999$ ). RSDs of precision, stability and repeatability tests were all less than 2%, the average recoveries were 101.21%, 98.83%, 102.17%, RSDs were 1.47%, 1.60% and 1.06% ( $n=6$ ), respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate and has good precision, stability and repeatability, which can be used for the simultaneous determination of three constituents in Wei'er kang Capsules.

**Key words:** HPLC; Wei'er kang Capsules; vitamin B<sub>1</sub>; vitamin C; methyl hesperidin; content determination

维尔康胶囊是由人参、灵芝、黄芪、甲基橙皮苷和维生素 A、E、C、B<sub>1</sub> 等制成的复方制剂,有健脾固体、益气扶正功效,可用于治疗年老体虚、健忘,亦可作胁痛、虚劳、久喘气短诸症的辅助治疗<sup>[1]</sup>。现行质量标准中,维尔康胶囊的含量检测仅以维生素 E 和维生素 C 为指标成分,不能全面地反映药品的内在质量。为更好地控制其质量,笔者参考文献[2–7],采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定维尔康胶囊中维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 和甲基橙皮苷 3 种水溶性成分的含量。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

e2695 型高效液相色谱仪,包括 2998 型二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司);KH-700DE 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);调速多用振荡器(常州国华电器有限公司)。

### 1.2 试剂

维尔康胶囊(广州粤华制药有限公司,批号分别为 160301, 161101, 180101, 规格为每粒 50 mg);维生素 B<sub>1</sub> 对照品(批号为 100390–201505,含量 97.5%),维生素 C 对照品(批号为 100425–201504,含量 99.9%),甲基橙皮苷对照品(批号为 111580–200503,含量 99.9%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,磷酸为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 柱(200 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:0.1% 磷酸溶液(A)–甲醇(B),梯度洗脱(0~6 min 时 95% A, 6~9 min 时 95% A→60% A, 9~30 min 时 60% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:270 nm;柱温:25  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:10  $\mu\text{L}$ 。

### 2.2 溶液制备

混合对照品溶液:取维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 和甲基橙皮苷对照品各适量,精密称定,置同一容量瓶中,加 20% 甲醇制成质量浓度分别为 200.3, 2000.1, 400.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合对照品贮备溶液;精密移取 10 mL,置 20 mL 容量瓶中,加 20% 甲醇定容,摇匀,即得。

供试品溶液:取样品 20 粒,取内容物,混匀,研细,取约 0.32 g,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加 20% 甲醇 35 mL,置振荡器上振摇 45 min(240 r/min),加 20% 甲醇定容,摇匀,即得。

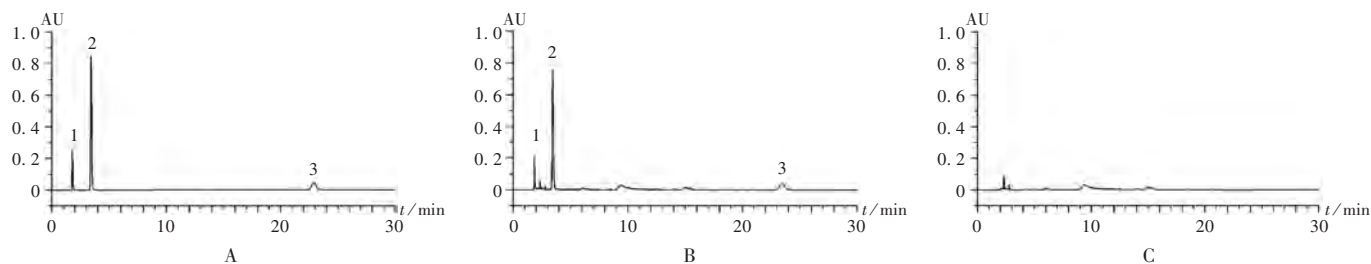
阴性对照品溶液:按处方和工艺制备缺维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 和甲基橙皮苷的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2.3 方法学考察

专属性试验:分别精密量取 2.2 项下 3 种溶液各适量,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,见图 1。结果阴性对照在与 3 种对照品相同保留时间处无干扰峰,表明方法专属性良好。

线性关系考察:分别精密量取 2.2 项下混合对照品贮备溶液 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 mL,分别置 20 mL 容量瓶中,加 20% 甲醇定容,摇匀,制成混合对照品系列溶液,量取 10  $\mu\text{L}$ ,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,以待测成分进样量( $X$ ,  $\mu\text{g}$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 和甲基橙皮苷的回归方程分别为  $Y_1 = 1.1050 \times 10^4 X_1 + 9.4451 \times 10^3$ ,  $Y_2 = 6.7417 \times 10^3 X_2 + 8.6593 \times 10^3$ ,  $Y_3 = 7.2519 \times 10^3 X_3 + 7.1363 \times 10^3$  ( $r > 0.999$ )。结果表明,维生素 B<sub>1</sub>、维生素 C 和甲基橙皮苷进样量在 0.250~1.502  $\mu\text{g}$ 、2.500~15.001  $\mu\text{g}$ 、0.500~3.002  $\mu\text{g}$  范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取 2.2 项下混合对照品溶液适量,按



1. 维生素 B<sub>1</sub> 2. 维生素 C 3. 甲基橙皮苷  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

表1 加样回收试验结果(n=6)

取样量(g)			样品含量(mg)			加入量(mg)			测得量(mg)			回收率(%)			$\bar{X}$ (%)			RSD(%)		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0.1523	0.1523	0.1523	2.052	23.011	4.156	2.003	20.001	4.003	4.127	43.259	8.329	103.59	101.23	104.25						
0.1634	0.1634	0.1634	2.150	24.267	4.376	2.003	20.001	4.003	4.142	43.687	8.464	99.45	97.10	102.12						
0.1574	0.1574	0.1574	2.086	23.366	4.305	2.003	20.001	4.003	4.135	43.258	8.388	102.30	99.46	102.00	101.21	98.83	102.17	1.47	1.60	1.06
0.1601	0.1601	0.1601	2.091	23.707	4.287	2.003	20.001	4.003	4.111	43.494	8.355	100.85	98.93	101.62						
0.1589	0.1589	0.1589	2.127	23.851	4.327	2.003	20.001	4.003	4.143	43.261	8.373	100.65	97.05	101.07						
0.1614	0.1614	0.1614	2.172	24.400	4.418	2.003	20.001	4.003	4.183	44.244	8.500	100.40	99.22	101.97						

注:A为维生素B<sub>1</sub>,B为维生素C,C为甲基橙皮苷。

拟订色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果维生素B<sub>1</sub>、维生素C和甲基橙皮苷峰面积的RSD分别为0.34%,0.67%,0.38%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液(批号为1801017),分别于室温下放置0,1,2,3,4,5h时按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果维生素B<sub>1</sub>、维生素C和甲基橙皮苷峰面积的RSD分别为0.50%,1.69%,0.22%(n=6),表明供试品溶液室温放置5h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为180101)6份,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果维生素B<sub>1</sub>、维生素C和甲基橙皮苷峰面积的RSD分别为0.90%,1.03%,0.76%(n=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为180101)6份,精密称定,分别加入一定量的对照品溶液,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表1。

#### 2.4 样品含量测定

取3批样品各适量,精密称定,按2.2项下方法,制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积,并计算样品含量。结果见表2。

表2 样品含量测定结果(mg/粒, n=3)

批号	维生素B <sub>1</sub>	维生素C	甲基橙皮苷
160301	4.255	49.250	8.800
161101	4.381	49.756	8.591
180101	4.289	48.074	8.678

### 3 讨论

预试验中对提取溶剂(水、10%甲醇、20%甲醇、50%甲醇)、提取方法(超声、振摇)和提取时间(30,45,60min)进行了考察,结果表明,20%甲醇与50%甲醇的提取效率较高且无明显差异,但20%甲醇提取的杂质峰较少,故选择20%甲醇作提取溶剂;超声提取维生素C的效率比振摇提取略低,可能是由于超声使溶液温度上升,不利于维生素C稳定地存在,故选择振摇提取的方法;45min和60min的提取效率无明显差异。故最终选择

20%甲醇振摇提取45min(速率240r/min)作为提取条件。

预试验中分别考察了乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.05%磷酸溶液、甲醇-0.1%磷酸溶液4个流动相系统<sup>[8-11]</sup>,结果表明,采用甲醇-水体系,各峰分离度较好,且基线平稳,出峰时间适宜,但峰形存在拖尾现象,故在水相中加入磷酸以改善峰形,效果较好,同时考虑到色谱柱的耐用性等因素,最终选择甲醇-0.1%磷酸溶液作流动相。分别考察了检测波长为242,260,270,283nm时对结果的影响,结果表明,以270nm作检测波长时,各峰吸收强度适宜,分离度好。

综上所述,本研究中建立的方法操作简便、准确,精密度、稳定性、重复性均较好,可用于同时测定维尔康胶囊中3种成分的含量。

#### 参考文献:

- [1] WS<sub>3</sub>-B-2433-97. 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第十二分册)[S].
- [2] 黄燕,张彬,高晓燕. HPLC法测定维尔康胶囊中维生素C和维生素B<sub>1</sub>的含量[J]. 中国药品标准,2007,8(1):45-46.
- [3] 贺建春,黄兰珍,余彦海. HPLC测定维尔康胶囊中甲基橙皮苷的含量[J]. 西北药学杂志,2008,23(3):147-148.
- [4] 陈建琴. 复方利血平氢氯噻嗪片中三组分的HPLC法测定[J]. 中国医药工业杂志,2016,47(1):76-78.
- [5] 陈洁莹,朱吉士,吴坤松. RP-HPLC测定脑络通胶囊中甲基橙皮苷的含量[J]. 现代食品与药品杂志,2007,17(1):39-41.
- [6] 罗红军,李慧,罗文鸿. 高效液相色谱法测定尿样中维生素C、B<sub>1</sub>和B<sub>2</sub>[J]. 汕头大学医学院学报,2012,25(2):65-66.
- [7] 苏明武,袁征,尹久,等. HPLC法测定脑络通胶囊中甲基橙皮苷的含量[J]. 中国药师,2007,10(11):1098-1099.
- [8] 陈曦娟. 反相高效液相色谱法检测维生素B<sub>1</sub>片中维生素B<sub>1</sub>含量的分析[J]. 内蒙古医学杂志,2018,50(11):1281-1283.
- [9] 李焕宇,邓朝晖. HPLC法测定二维亚铁颗粒中维生素C和维生素B<sub>1</sub>的含量[J]. 药学实践杂志,2013,31(5):380-383.
- [10] 栗建明,隆颖,黄思茹. HPLC同时测定脑络通胶囊中盐酸托吡酮和甲基橙皮苷的含量[J]. 中国药学杂志,2010,45(1):60-63.
- [11] 索志荣,郑建斌,朱小红. 复方三维亚油酸胶丸I中甲基橙皮苷和维生素C的HPLC分析[J]. 药物分析杂志,2005,25(9):1012-1014.

(收稿日期:2019-04-10)