

高效液相色谱法测定长春西汀注射液中 维生素 C 的含量

向东,汪秋兰,邓丽,王文清,方建国,熊微

(华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部,武汉 430030)

摘要 目的 建立测定长春西汀注射液中维生素 C 含量的高效液相色谱法(HPLC)。方法 色谱柱为 InertSustain-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)柱,流动相为乙腈-0.2 mol·L⁻¹醋酸铵溶液(60:40),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 280 nm。结果 维生素 C 在 2.5~125.0 μg·mL⁻¹范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9997$,平均回收率为 101.61%,RSD=1.18%($n=9$)。结论 该方法准确、灵敏、重复性好,可用于长春西汀注射液中维生素 C 的含量测定。

关键词 维生素 C;长春西汀;含量测定;色谱法,高效液相

中图分类号 R973.2;R927.2

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2016)12-1352-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2016.12.014

Determination of Vitamin C in Vinpocetine Injection by High Performance Liquid Chromatography

XIANG Dong, WANG Qiulan, DENG Li, WANG Wenqing, FANG Jianguo, XIONG Wei (Department of Pharmacy, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Objective To establish an HPLC method for determining the vitamin C content in the vinpocetine injection. **Methods** The chromatographic column was the InertSustain-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase of acetonitrile-0.2 mol·L⁻¹ ammonium acetate solution (60:40), the flow rate was 1 mL·min⁻¹, the column temperature was 30 ℃, and the detection wavelength was 280 nm. **Results** The calibration curves of vitamin C showed a good linear relationship over the range of 2.5–125.0 μg·mL⁻¹, $r=0.9997$. The average recovery of vitamin C was 101.61% and RSD was 1.18% ($n=9$). **Conclusion** This method is accurate, sensitive, reproducible, and can be used for the determination of the vitamin C content in vinpocetine injection.

KEY WORDS Vitamin C;Vinpocetine;Content determination;Chromatography, high performance liquid

长春西汀注射液主要用于改善脑梗死、脑出血后遗症及动脉硬化症等引发的各种症状,对神经功能缺损及心功能不全具有较好的改善作用^[1-2]。注射液中加入抗氧化剂维生素 C 起保护长春西汀的作用,是注射剂中的主要辅料。辅料的含量以及降解产物也是影响注射剂安全性和稳定性的重要因素^[3]。因此,为了提高对长春西汀注射液的质量控制,对维生素 C 含量进行监测十分必要,而笔者目前未见报道。《中华人民共和国药典》采用碘滴定法测定维生素 C 的含量,其他常规分析方法还有荧光分析法和分光光度

法^[4],但并不适用于含有多种抗氧化剂^[5]和其他辅料的注射液,另外,维生素 C 性质不稳定,给准确测定带来了麻烦。近年来采用高效液相色谱(HPLC)测定水果^[6]、食品^[7]、药品^[8]中维生素 C 含量的方法应用广泛,该方法具有较高的准确性、精密性和灵敏度,简便快速,适用性好^[9]。本实验建立了高效液相色谱法(HPLC)测定长春西汀注射液中维生素 C 含量的方法,以增加对长春西汀注射液的质量控制,为注射剂中抗氧化剂维生素 C 的测定提供一定的参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),包括 LC-10AD 泵,SPD-10A 型检测器;AUW 220D 型双量程分析天平(日本岛津公司,感量:0.1 或 0.01 mg)。

1.2 试剂 维生素 C 对照品(含量 100.0%,批号:100425-201103,中国食品药品检定研究院);长春西汀注射液(武汉华龙制药有限公司生产,规格:2 mL:20 mg,

收稿日期 2015-07-17 修回日期 2015-10-21

作者简介 向东(1989-),男,湖北荆州人,在读博士,研究方向:药物分析与中药药理学。电话:027-83624090, E-mail:xd9048@sina.com。

通信作者 熊微(1980-),男,湖北武汉人,主管药师,博士,研究方向:药物分析与药物制剂。电话:027-83624090, E-mail:xwpharm@189.cn。

维生素 C 含量 0.50 mg, 批号: 1330011, 1330012, 1330013; 规格: 2 mL: 10 mg, 维生素 C 含量 0.50 mg, 批号: 1330008, 1330009, 1330010; 规格: 5 mL: 30 mg, 维生素 C 含量 1.25 mg, 批号: 1330005, 1330006, 1330007, 3 种规格注射剂维生素 C 的处方浓度: 0.25 mg · mL⁻¹。乙腈为色谱纯, 水为新制多效纯化水, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性实验 InertSustain C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-0.2 mol · L⁻¹ 醋酸铵溶液 (60 : 40); 检测波长: 280 nm; 流速: 1 mL · min⁻¹, 柱温: 30 °C, 进样量: 10 μL。维生素 C 理论板数 > 2 000, 保留时间 2.0 min。供试品溶液色谱图中, 维生素 C 峰与其他色谱峰分离度良好。空白对照溶液在维生素 C 峰相应保留时间处无干扰吸收峰, 对含量测定无干扰。见图 1。

2.2 溶液的制备 对照品溶液: 取维生素 C 对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解并定量稀释成每毫升中约含 25 μg 的溶液, 摇匀, 即得, 临用时新制。供试品溶液: 取本品 (规格: 2 mL: 10 mg, 2 mL: 20 mg, 5 mL: 30 mg) 10 支, 混匀, 精密量 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得, 临用时新制。空白对照溶液: 按长春西汀注射液中各处方比例制备不含维生素 C 的空白对照样品, 再按供试品溶液的方法制备, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密称取维生素 C 对照品 12.50 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液, 再精密量取 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。分别取各供试品溶液 10 μL 进样, 记录色谱图。以峰面积 (A) 对浓度

(C) 作线性回归, 得回归方程: $A = 36\,041C + 34\,228$, $r = 0.999\,7$, 结果表明维生素 C 在 2.5 ~ 125.0 μg · mL⁻¹ 范围内与峰面积线性关系良好。

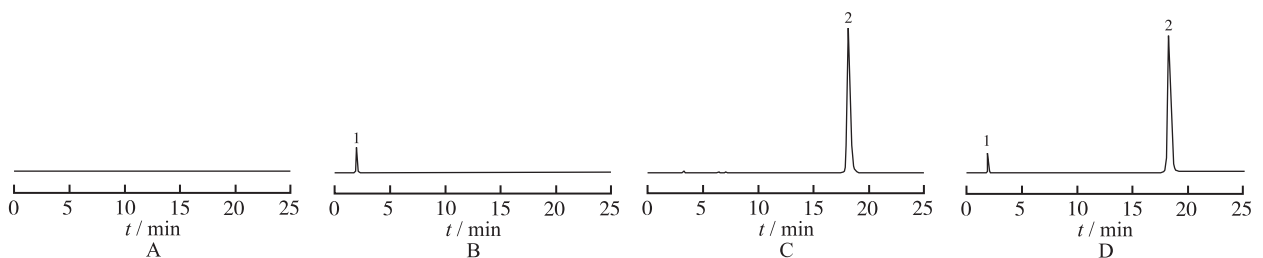
2.3.2 检测限与定量限检测 取维生素 C 对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解并定量稀释成每毫升中约含 2 μg 的溶液, 作为定量限储备液; 用流动相稀释成不同浓度的溶液, 分别取 10 μL 进样。当信噪比约为 10:1 时, 维生素 C 的浓度为 0.060 3 μg · mL⁻¹, 因此确定其定量限为 0.603 ng。当信噪比约为 3:1 时, 维生素 C 的浓度为 0.030 1 μg · mL⁻¹, 因此确定其最低检测限为 0.301 ng。

2.3.3 稳定性实验 取维生素 C 对照品适量, 加流动相溶解并定量稀释成每毫升中约含 40 μg 的溶液, 于室温 (20 ~ 25 °C) 下避光放置, 在 1.5 h 内每隔 10 min 进样一次, 测定峰面积。另取供试品溶液于室温下避光放置, 在 4 h 内每隔 1 h 进样一次, 测定峰面积。结果表明, 维生素 C 的稳定性较差, 对照品溶液于室温 (20 ~ 25 °C) 条件下避光放置 1.5 h 后, 峰面积的 RSD > 2.0%, 而供试品溶液相同条件放置 4 h 后, 峰面积的 RSD > 2.0%。因此为了保证测定结果的准确性, 本实验中各溶液必须临用新制。

2.3.4 精密度实验 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 重复进样 6 次。结果峰面积测量值的 RSD 为 1.79% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

2.3.5 重复性实验 取本品 10 支, 混合均匀后按“2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 分别进样测定。结果维 C 的百分含量的 RSD = 1.37% ($n = 6$), 表明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率实验 取本品 10 支, 混合均匀后量取 0.5 mL 于 10 mL 量瓶中, 按“2.2”项下供试品溶液 80% ~ 120% 取样量的范围取样, 分别加入对照品



A. 空白溶剂; B. 维生素 C 对照品; C. 空白对照溶液; D. 供试品溶液; 1. 维生素 C; 2. 长春西汀

图 1 4 种溶液的高效液相色谱图

A. blank solvent; B. vitamin C reference; C. blank control solution; D. test solution; 1. vitamin C; 2. vinpocetine

Fig. 1 HPLC chromatograms of four kinds of solutions

溶液 6,5 和 4 mL,即平行制备高浓度、中浓度、低浓度供试品溶液各 3 份,进样测定,计算回收率,总平均回收率为 101.61%,RSD 为 1.18。可见在 80%~120%测试浓度的范围内,测定结果的准确度良好。见表 1。

表 1 维生素 C 回收率测定结果
Tab. 1 Recovery results of vitamin C

原有量	加入量	测得量	回收率/ %
	μg		
83.51	100.24	186.37	102.61
83.51	100.24	185.26	101.51
83.51	100.24	185.23	101.48
83.51	125.30	213.76	103.95
83.51	125.30	213.99	104.13
83.51	125.30	209.65	100.67
83.51	150.36	235.66	101.19
83.51	150.36	233.49	99.75
83.51	150.36	232.72	99.24

2.4 维生素 C 含量测定和稳定性实验 取规格 2 mL:10 mg(批号:1330008,1330009,1330010)的 3 批长春西汀注射液,规格为 2 mL:20 mg(批号:1330011,1330012,1330013)的 3 批长春西汀注射液,规格为 5 mL:30 mg(批号:1330005,1330006,1330007)的 3 批长春西汀注射液各 10 支,混匀,临用新制。按照“2.2”项下方法制备供试品溶液和对照品溶液。照“2.1”项下的色谱条件,按外标法以峰面积计算维生素 C 和长春西汀的含量,并进行长期加速稳定性实验,取各个规格 3 批样品的平均值,结果见表 2。

表 2 稳定性考察中维生素 C 和长春西汀含量结果
Tab. 2 Content determination of vitamin C and vinpocetine in stability test

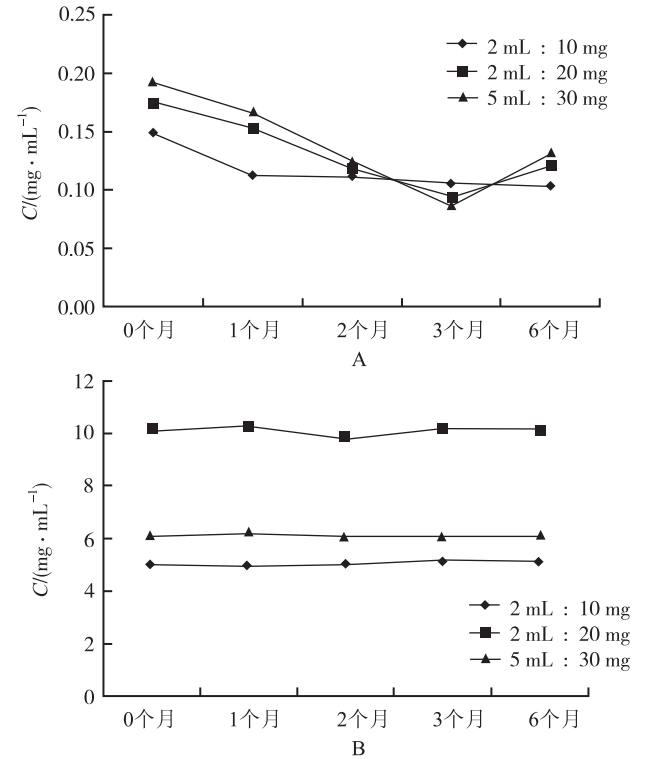
规格与 测定物质	加速稳定性				
	0 个月	1 个月	2 个月	3 个月	6 个月
2 mL : 10 mg					
维生素 C	0.147 6	0.111 2	0.111 4	0.104 5	0.103 7
长春西汀	4.989 6	4.985 5	4.971 7	5.096 5	5.081 7
2 mL : 20 mg					
维生素 C	0.173 9	0.152 0	0.118 5	0.093 3	0.120 4
长春西汀	10.123 1	10.230 7	9.848 2	10.106 9	10.126 5
5 mL : 30 mg					
维生素 C	0.193 1	0.165 5	0.124 6	0.086 2	0.131 8
长春西汀	6.131 6	6.181 8	6.077 6	6.082 9	6.084 5

维生素的处方浓度为 0.25 mg · mL⁻¹,从图 2 中可以看出,在最初的含量测定中维生素 C 浓度范围

0.14~0.20 mg · mL⁻¹之间,说明在灌装过程中已有部分降解,维生素 C 的稳定性较差。随着加速实验的进行,维生素 C 的含量不断降低,由于氮气和抗氧化剂的存在,降解速度相对较慢,而长春西汀的含量基本保持不变,维生素 C 起到了很好的抗氧化作用。

3 讨论

笔者在本实验比较了不同波长、流速、流动相比比例和色谱柱对含量测定的影响,以外标法计算维生素 C 的浓度。在 278,280,282 nm 3 个波长下,浓度 RSD = 0.95%;在 0.9,1.0,1.1 mL · min⁻¹ 3 个流速下,浓度 RSD = 1.40%;在色谱柱 1: Welch Ultimate XB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 色谱柱 2: Shimadzu InertSustain C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 色谱柱 3: Agilent Eclipse Plus C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 3 个色谱柱下,浓度 RSD = 2.27%;在 65:35,60:40,55:45 3 个不同流动相比比例下,浓度 RSD = 0.64%。结果表明该方法耐用性好。



A 维生素 C 含量变化;B 长春西汀含量变化
图 2 维生素 C 和长春西汀加速实验
A. vitamin C content;B. vinpocetine content
Fig. 2 Accelerated test of vitamin C and vinpocetine

维生素 C 在水溶液中呈互变异构的形式存在,性质不稳定,易被光、氧气、金属离子等氧化,常常作为抗氧化剂用于药品、食品的辅料和添加剂中^[9]。由于注

射液中存在其他抗氧化剂和氮气的保护,维生素 C 的降解相对较慢,但在测定过程中降解较快,因此维 C 的测定时,溶液必须临用新制,测定时间最好不要超过 1 h,否则将导致测定的结果不准确。

本实验为提高长春西汀注射液的质量标准,建立了高效液相色谱法测定注射液中的维生素 C 含量,该方法准确、灵敏、重复性好,可用于长春西汀注射液中维生素 C 的含量测定。

参考文献

- [1] 刘加元,何胜利. HPLC 测定长春西汀注射液的有关物质[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(4):137-139.
- [2] 易继龙,卢志刚. 长春西汀注射液对脑梗死并发性心力衰竭患者炎症因子的影响[J]. 医药导报,2014,33(2):210-212.
- [3] 熊晔蓉,杜运爱,李畅,等. 注射用辅料安全性分析及其管理系统的建立[J]. 中国新药杂志,2014,23(16):1912-1917.
- [4] 孙智勇,吕超治,邓镇涛,等. HPLC 法研究水溶液中维生

素 C 的稳定性[J]. 食品研究与开发,2014,35(1):70-72.

- [5] 郑稳生,王璐璐,陈少华,等. 紫外分光光度法测定长春西汀注射液中焦亚硫酸钠含量[J]. 医药导报,2012,31(8):1082-1083.
- [6] MAZUREK A, JAMROZ J. Precision of dehydroascorbic acid quantitation with the use of the subtraction method-Validation of HPLC-DAD method for determination of total vitamin C in food[J]. Food Chem,2015,173:543-550.
- [7] SZALAI G, JANDA T, PAL M. Routine sample preparation and HPLC analysis for ascorbic acid (vitamin C) determination in wheat plants and arabidopsis leaf tissues[J]. Acta Biol Hung,2014,65(2):205-217.
- [8] 刘春光,陈新善,武向锋. HPLC 法测定盐酸异丙嗪注射液中维生素 C 的含量[J]. 解放军药学报,2013,29(2):155-56.
- [9] SPINOLA V, LLORENT-MARTINEZ E J, CASTILHO P C. Determination of vitamin C in foods; current state of method validation[J]. J Chromatogr A,2014,1369:2-17.

兰索拉唑肠溶微丸片的制备工艺

张佳,汤媛媛,糜志远

(湖北工业大学轻工学部食品与制药工程学院,武汉 430068)

摘要 目的 筛选兰索拉唑微丸片的最优处方并评价制剂质量。方法 用单因素实验和正交实验对方剂进行筛选和优化;采用紫外-可见分光光度法测其溶出度,高效液相色谱法测定主药含量及有关物质。**结果** 筛选出的最优处方为:兰索拉唑微丸 35%、交联聚维酮 35%、乳糖 9%、淀粉 9%、10% 聚维酮 K30 乙醇溶液 11.5%、硬脂酸镁 0.5%。实验表明崩解时限 <60 s,在 pH 值 1.2 的盐酸中 2 h 累积释放率 <7%,在 pH 值 6.8 的磷酸盐缓冲液中 45 min 的累积释放率 >80%。**结论** 所筛选的处方合理,符合 2010 年版《中华人民共和国药典》有关兰索拉唑肠溶片质量要求。

关键词 兰索拉唑;肠溶微丸片;制备工艺

中图分类号 R975.6;TQ460.6

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2016)12-1355-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2016.12.015

Preparation of Lansoprazole Enteric-coated Pellets-type Tablets

ZHANG Jia, TANG Yuanyuan, MI Zhiyuan (College of Food and Pharmaceutical Engineering, Light Industry Division, Hubei Industrial University, Wuhan 430068, China)

ABSTRACT Objective To optimize the formula of lansoprazole enteric-coated pellets-type tablets and evaluate the quality. **Methods** Orthogonal $L_9(3^4)$ test was designed to optimize the prescription. UV spectrophotometry was used to detect dissolution of lansoprazole enteric-coated pellets-type tablets and HPLC method was established for determination of lansoprazole and the related substances. **Results** The optimized prescription was 35% of lansoprazole pellets, 35% of cross-linked povidone, 9% of lactose, 9% of starch, 11.5% of povidone K30 (10% ethanol solution), 0.5% of magnesium stearate. The test showed that disintegration time was less than 60 s. The accumulated release of the pellets and the tablets in hydrochloric acid (pH 1.2) within 2 h were less than 7%, while in phosphate buffer (pH 6.8) within 45 min were over 80%. **Conclusion** The optimal prescription is feasible. The enteric-coated tablets conform to the quality standard in the Chinese Pharmacopoeia 2010 edition.

KEY WORDS Lansoprazole; Enteric-coated pellets tablets; Technology of preparation