

HPLC-ELSD 法测定三维肌醇片中肌醇的含量

魏钰茜¹, 刘倩², 王丽³, 赵仁永⁴(1 解放军总医院南楼药局, 北京, 100853; 2 北京市肿瘤医院, 北京, 100036; 3 山东赛克赛斯药业科技有限公司, 济南, 250101; 4 山东省医药工业研究所, 济南, 250100)

摘要 目的: 建立简便准确的测定三维肌醇片中肌醇含量的方法。**方法:** 采用 HPLC-ELSD 方法进行测定, 色谱柱为 Ultimate™ XB-NH₂ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (70 : 30), 流速 0.8 mL · min⁻¹, 漂移管温度 100 °C, 雾化气流速度 2.5 L · min⁻¹。**结果:** 肌醇在 0.1016 ~ 1.016 mg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好, $r = 0.9997$, 平均回收率 102.32%, RSD = 1.41%, 样品中其他成分不干扰测定。**结论:** 本方法简便可靠, 可用于复方制剂中肌醇含量的质量控制。

关键词 肌醇; 高效液相色谱蒸发光检测; 含量测定

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1672 - 8157(2009)06 - 0341 - 03

Content Determination of Inositol in Trivitamins and Inositol Tablets by HPLC-ELSD

WEI Yu-xi¹, LIU Qian², WANG Li³, ZHAO Ren-yong⁴(1 Department of Nanlou Pharmacy, PLA General Hospital, Beijing, 100853; 2 Beijing Tumor Hospital, Beijing, 100036; 3 Shandong Success Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Jinan, 250101; 4 Shandong Institute of Pharmaceutical Industry, Jinan, 250100)

ABSTRACT Objective: To establish a simple and accurate method for the content determination of inositol in trivitamins and inositol tablets. **Methods:** The assay was performed by HPLC-ELSD method. An Ultimate™ XB-NH₂ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used for separation. Acetonitrile-water (70 : 30) was used as mobile phase at a flow rate of 0.8 mL · min⁻¹. The temperature of drift tube was 100 °C, and the speed of atomizing flow was 2.5 L · min⁻¹. **Results:** Under the above described chromatographic conditions, the linear ranges of inositol was 0.1016 ~ 1.016 mg · mL⁻¹ ($r = 0.9997$), and the mean recovery rate was 102.32% (RSD = 1.41%). The other ingredients in the sample showed no interference for the determination of inositol. **Conclusion:** The assay method is simple and accurate for the quality control of inositol in compound preparations.

KEY WORDS Inositol; HPLC-ELSD; Content determination

进一步研究。

参考文献

- [1] Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, *et al.* Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease[J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(16): 1139-1147.
- [2] Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation[J]. *Circ Res*, 2001, 89(9): 763-771.
- [3] 程晓静, 王绿娅, 刘晓惠. 急性冠脉综合征药物抗炎治疗的研究进展 [J]. *中国药物应用与监测*, 2005, 2(2): 17-20.
- [4] Nawawi H, Osman NS, Yusoff K, *et al.* Reduction in serum levels of adhesion molecules, interleukin-6 and C-reactive protein following short-term low-dose atorvastatin treatment in patients with non-familial hypercholesterolemia[J]. *Horm Metab Res*, 2003, 35(8): 479-485.
- [5] Meng CQ, Somers PK, Hoong LK, *et al.* Discovery of novel phenolic antioxidants as inhibitors of vascular cell adhesion molecule-1 expression for use in chronic inflammatory diseases[J]. *J Med Chem*, 2004, 47(25): 6420-6432.
- [6] 范利, 朱冰坡, 曹建, 等. 普罗布考对老年下肢动脉硬化症患者血管内皮活性因子及炎症因子的影响 [J]. *微循环学杂志*, 2006, 16(3): 55-57.
- [7] Verschuren L, Kleemann R, Offerman EH, *et al.* Effect of low dose atorvastatin versus diet-induced cholesterol lowering on atherosclerotic lesion progression and inflammation in apolipoprotein E*3-Leiden transgenic mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(1): 161-167.

(收稿日期: 2009-07-21 修回日期: 2009-09-28)

[作者简介] 魏钰茜, 女, 药师, 研究方向: 老年人用药。Tel: (010) 66876394, E-mail: ciciweigirl80@yahoo.com.cn

三维肌醇片是由肌醇、维生素C、维生素B₁、维生素B₂、蔗糖和辅料组成,其中肌醇为主要成分之一。该药品用于脂肪肝、肝炎、早期肝硬化和高脂血症等疾病的辅助治疗,可促进肝和其他组织中脂肪的代谢,具有一定的降脂作用,同时也可用于补充维生素。该药品现行质量标准中,未对肌醇含量进行测定。本研究采用HPLC-ELSD方法对三维肌醇片中的肌醇进行测定,旨在建立该药品简便可靠的质量控制方法。

1 材料与方法

1.1 仪器

Waters 515高效液相色谱仪(美国Waters公司), Waters 717自动进样器(美国Waters公司), Alltech ELSD 2000蒸发光散射检测器(美国Alltech公司), SARTORIUS BP211D电子天平(德国赛多利斯公司)。

1.2 试药

肌醇对照品(天津市天新精细化工开发中心,含量>99%,批号20050206),三维肌醇片(浙江昂利康制药有限公司,批号20050703,20060102,20060304);维生素C、维生素B₁、维生素B₂和蔗糖(均为分析纯,北京嘉康源科技发展有限公司);乙腈为色谱纯;水为重蒸水;其余为分析纯。

1.3 色谱条件

色谱柱为Ultimate™ XB-NH₂ (4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(70:30),流速0.8 mL·min⁻¹,柱温为室温,ELSD漂移管温度100℃,雾化气流速度2.5 L·min⁻¹,撞击板关闭,进样量10 μL。

1.4 溶液的制备

1.4.1 对照品溶液的制备 取肌醇对照品约50 mg,精密称定,置于50 mL容量瓶中,用适量水溶解后,加水至刻度,作为对照品溶液。

1.4.2 供试品溶液的制备 取三维肌醇片20片,研细,混合均匀,分别取相当于肌醇25 mg的样品,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入50 mL水,超声30 min,精密称定,用水补足重量,过滤,取续滤液,作为供试品溶液。

1.4.3 阴性样品溶液的制备 根据三维肌醇片处方比例,取维生素C、维生素B₁、维生素B₂和蔗糖配制成阴性样品,按照供试品溶液制备方法制备成阴性供试品溶液。

2 结果

2.1 系统适应性试验

分别取肌醇对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各10 μL在上述色谱条件下进行测定。由图1可

知,对照品峰形良好,肌醇保留时间约10 min;供试品溶液中肌醇与其他组分分离完全,分离度大于1.5,理论塔板数按照肌醇峰计算不低于3 000;阴性样品对肌醇的测定无干扰。具体见图1。

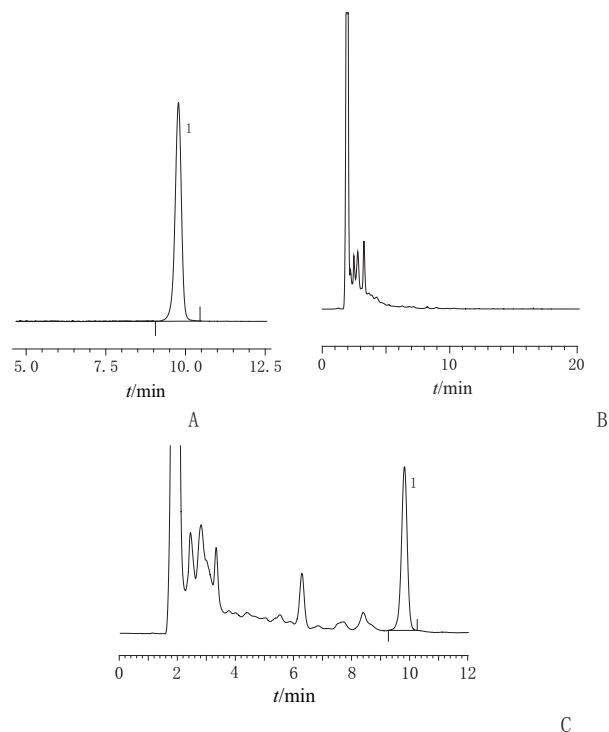


图1 高效液相色谱图

A - 对照品; B - 阴性样品; C - 供试品; 1 - 肌醇

Fig 1 HPLC chromatograms

A - reference substance; B - negative sample; C - sample; 1 - inositol

2.2 线性关系考察

精密量取对照品溶液1, 2, 4, 6, 8, 10 mL, 分别置10 mL容量瓶中,用水稀释至刻度。取上述溶液各10 μL,按上述色谱条件注入液相色谱仪,以浓度C(μg·mL⁻¹)的对数(lnC)为横坐标,峰面积A的对数(lnA)为纵坐标,计算回归方程,得方程ln A = 1.338 9 ln C + 2.647 2 (r = 0.999 7)。结果表明,肌醇在0.101 6 ~ 1.016 mg·mL⁻¹范围内线性关系良好。

2.3 精密度试验

2.3.1 重复性 取同一对照品溶液,连续进样6次,测定色谱峰面积,所得色谱峰面积RSD = 0.63%,结果表明进样精密度良好。

2.3.2 日内精密度 分别取相当于肌醇30, 25, 20 mg的样品,按“1.4.2”方法制成高、中、低浓度的供试品溶液,分别于0, 2, 4, 6, 8 h进行测定,计算各浓度供试品色谱峰面积的相对标准偏差。高、中、低3个浓度的供试品峰面积RSD分别为0.95%, 0.64%和0.77%,表明供试品测定8 h内精密度良好。

2.3.3 日间精密性 取“2.3.2”项下高、中、低浓度的供试品溶液,分别于第0,1,2,3,4,5天测定样品含量,计算各浓度供试品含量测定的相对标准偏差。高、中、低3个浓度的供试品含量测定RSD分别为1.22%,1.37%和1.33%,表明供试品测定日间精密性良好。

2.3.4 重现性 按上述方法对同一批号(20050703)样品由不同实验员进行6次测定,结果同一批号样品测定的RSD为1.47%,重现性良好。

2.4 加样回收率试验

取相当于肌醇12 mg的样品(批号20050703),精密称定,分别加入肌醇对照品9,12,15 mg,按照“1.4.2”方法制成加样回收供试品溶液,每样品平行2份,注入液相色谱仪进行测定,平均回收率为102.32%,RSD=1.41%。结果见表1。

表1 加样回收率试验测定结果

Tab 1 Results of recovery test

样品	样品已知含量/mg	加入对照品量/mg	测得量/mg	回收率/%
1	12.22	9.11	9.17	100.66
2	12.12	9.08	9.39	103.41
3	12.17	12.23	12.40	101.39
4	12.11	12.17	12.38	101.73
5	12.09	14.98	15.30	102.14
6	12.21	15.02	15.71	104.59

2.5 样品含量测定

分别取3批样品,按“1.4.2”项下方法制备供试品溶液注入液相色谱仪进行测定。结果见表2。

表2 3批样品肌醇含量测定结果

Tab 2 Content determination of inositol in 3 batches of samples

批号	含量/(g/片)	平均含量/(g/片)
20050703	0.1003	0.1005
	0.1007	
20060102	0.1005	0.1008
	0.1010	
20060304	0.1009	0.1010
	0.1012	

3 讨论

3.1 文献报道的肌醇测定方法中,高碘酸钠滴定法^[1]不能排除邻二醇化合物的干扰,不适用于本品的测定;微生物法^[2]和紫外分光光度法^[3]的专属性较差,操作也较为繁琐,不能满足复方制剂测定的需要。由于肌醇的沸点较高,使用气相色谱法^[4]时,须采用柱前衍生化,将其制备成低沸点的酯类进行测定,衍生化步骤较为复杂。

肌醇的高效液相色谱法报道的有紫外末端吸收检测^[5]、柱前衍生化后紫外检测法^[6]等,前者存在灵敏度低、干扰大的缺点,后者操作繁琐,分析时间长。另有报道使用示差折光检测器检测^[7]、质谱检测器检测^[8]等方法,前者需要较长的平衡时间,且易受外界环境温度变化等因素影响,后者设备昂贵,检测成本高,不适用于日常检测。

本研究建立了三维肌醇片中肌醇含量HPLC-ELSD测定方法,样品无需前处理,操作简便,结果准确,能够作为该药品的质量控制方法,特别适合于药品生产过程中的质量监控。

3.2 肌醇为多羟基化合物,在C₁₈柱上基本不保留,通过对不同的色谱柱进行筛选,发现肌醇在NH₂柱上有适宜的保留,故选择使用NH₂柱在反相条件下进行测定,效果良好。在本实验条件下,三维肌醇片中其他成分对肌醇的测定没有干扰。

3.3 本实验考察了ELSD漂移管温度和气流速度对肌醇峰面积和基线噪音的影响。在其他条件不变时,漂移管温度在80~100℃之间,气流速度在2.0~2.5 L·min⁻¹之间,肌醇峰面积无显著变化。但和C₁₈柱相比,NH₂柱在ELSD上的基线噪音较大,这可能与在反相条件下,流动相中含水量较高,NH₂柱的键合基团容易流失有关。选择较高的漂移管温度和较大的气流速度时,基线噪音明显降低,故最终选择漂移管温度在100℃,气流速度2.5 L·min⁻¹。

参考文献

- [1] 张楚富,林清华,梁会,等.高碘酸钠氧化法测定肌醇含量[J].武汉大学学报:自然科学版,1996,42(2):215-217.
- [2] 唐伟,池振明,孟召雷,等.利用粟酒裂殖酵母生长法定量测定肌醇浓度[J].食品与发酵工业,2003,29(3):54-58.
- [3] 王秀丽,李叶云,周会.败酱草中肌醇含量测定[J].安徽中医学院学报,2002,21(1):52-54.
- [4] 杨大进,方从容,王竹天.保健食品中肌醇含量测定方法研究[J].中国食品卫生杂志,1999,11(2):9-10.
- [5] 景丽洁,王建刚,王树清,等.反相高效液相色谱法测定肌醇[J].色谱,2000,18(3):73-74.
- [6] 汪江山,严拯宇,姜新民,等.柱前衍生化RP-HPLC法测定肌醇片剂的含量[J].药学进展,2003,27(1):44-46.
- [7] 刘珊珊,吴琼珠.高效液相色谱法测定赖氨酸肌醇维B₁₂口服溶液中维生素B₁₂及肌醇的含量[J].药学与临床研究,2007,15(5):371-374.
- [8] Perelló J, Isern B, Costa-Bauzá A. Determination of myo-inositol in biological samples by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004, 802(2): 367-370.

(收稿日期:2009-05-18 修回日期:2009-09-17)