

# 固相萃取 RP-HPLC同时测定复合维生素注射液中的 VA 棕榈酸酯、VD<sub>3</sub> 和 VE 醋酸酯

刘红菊, 闫冲 (广东医学院药学院, 广东 东莞 523808)

**摘要** 目的: 用非水反相高效液相色谱法建立复合维生素注射液中维生素 A 棕榈酸酯、维生素 D<sub>3</sub> 和维生素 E 醋酸酯的含量测定方法。方法: 3种脂溶性维生素经固相萃取法进行萃取分离; 含量测定色谱条件为: C<sub>18</sub> 色谱柱 (5 μm, 4.6×150 mm), 流动相乙腈-甲醇-二氯甲烷 (70: 20: 10), 检测波长 265 nm。结果: 维生素 A 棕榈酸酯、维生素 D<sub>3</sub> 和维生素 E 醋酸酯的线性关系良好, 相关系数均为 0.999 9, 回收率分别为 99.1%、100.6% 和 99.2%, RSD 分别为 0.19%、0.79% 和 0.52%。结论: 本方法快速、灵敏、准确, 可作为复合维生素注射液中维生素 A 棕榈酸酯、维生素 D<sub>3</sub> 和维生素 E 醋酸酯的含量测定方法。

**关键词** 非水反相高效液相色谱法; 固相萃取法; 复合维生素注射液; 维生素 A 棕榈酸酯; 维生素 D<sub>3</sub>; 维生素 E 醋酸酯

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2007)03-0162-03

## Determination of retinol palmitate, colecalciferol and vitamin E acetate in multivitamin injection by solid phase extraction and RP-HPLC

LIU Hongju, YAN Chong (School of Pharmacy, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China)

**ABSTRACT Objective** To establish nonaqueous RP-HPLC to determine retinol palmitate, colecalciferol and vitamin E acetate in multivitamin injection simultaneously. **Methods** The fat vitamins were extracted by SPE. The determination was performed on Waters C<sub>18</sub> column (150×4.6 mm, 5.0 μm) with the mobile phase of acetonitrile-methanol-dichloromethane (70: 20: 10), at a flow rate of 1.0 mL/min and the detection wavelength of 265 nm. **Results** In the linear range the correlation coefficients were all 0.999 9. The average recoveries of retinol palmitate, colecalciferol and vitamin E acetate were 99.1%, 100.6% and 99.2%, RSD were 0.19%, 0.79% and 0.52%. **Conclusion** The method is simple and rapid, suitable for the analysis of retinol palmitate, Colecalciferol and vitamin E acetate in multivitamin injection.

**KEY WORDS** nonaqueous RP-HPLC; solid phase extraction; multivitamin injection; retinol palmitate; colecalciferol; vitamin E acetate

维生素是人体必需的一类重要物质, 常人依靠摄入含维生素的食物即可满足机体需要, 而食物中维生素摄取不足者需通过维生素制剂进行补充。该复合维生素注射液含多种脂溶性维生素和水溶性维生素, 适用于经胃肠道营养摄取不足或经胃肠道营养禁忌者通过静脉滴注补充每日所需的维生素。为有效控制其质量, 本文研究了对注射液中脂溶性维生素的测定方法, 采用固相萃取法对脂溶性维生素进行提取分离, 用非水反相高效液相色谱法进行含量测定。方法快速简便, 分离效果好, 回收率高, 可作为该复合维生素注射液中脂溶性维生素的含量测定方法。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: P99II 二元梯度泵、UV 99 紫

外检测器 (北京温分分析仪器技术开发公司)。N 2000 色谱工作站 (浙江大学智能信息工程研究所)。C<sub>18</sub> (ODS) SPE 小柱 (500 mg/3 mL)。甲醇、乙腈为色谱纯, 二氯甲烷、丙酮、乙醇为分析纯, 水为石英亚沸重蒸水。维生素 A 棕榈酸酯对照品 (99%) 购自 sigma 公司。维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E 醋酸酯对照品均由中国药品生物制品检定所提供。复合维生素注射液为本院自制。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Waters C<sub>18</sub> (ODS), 5 μm, 4.6×150 mm。流动相: 乙腈-甲醇-二氯甲烷 (70: 20: 10)。检测波长: 265 nm。流速: 1 mL/min, 柱温: 30 °C。

**2.2 系统适用性试验** 在上述色谱条件下, 空白辅料、对照品、注射液的色谱图见图 1。辅料、降解产

物对测定无干扰。维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E 醋酸酯和维生素 A 棕榈酸酯的保留时间分别约为 5.5 min、7.5

min、15.8 min。色谱柱的理论塔板数以维生素 A 棕榈酸酯峰计不低于 8 000。

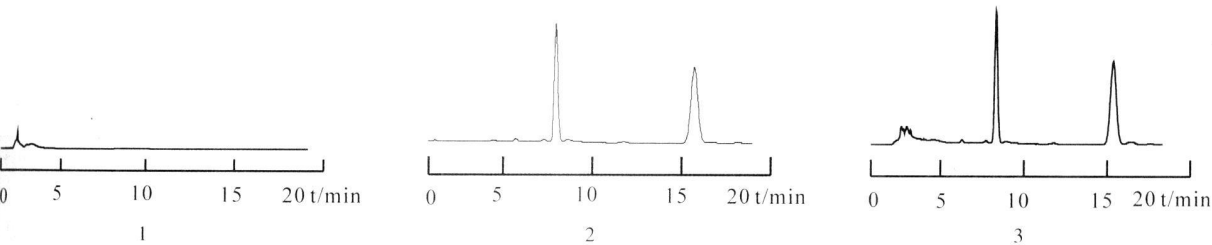


图 1 空白、对照品和注射液色谱图

1- 维生素 D<sub>3</sub>; 2- 维生素 E 醋酸酯; 3- 维生素 A 棕榈酸酯

**2.3 样品前处理** 取复合维生素注射液加等量水进行稀释,取 2 mL 上样 (SPE 小柱先用 20% 乙醇溶液 20 mL 预洗),减压缓慢滴下,再用 20% 乙醇溶液约 25 mL 进行减压淋洗。最后, SPE 小柱用 3 mL 丙酮减压缓慢洗脱,收集丙酮洗脱液,用缓氮气流吹干,残渣用 1 mL 流动相溶解,得供试品溶液。以上操作均在避光和低温条件下进行。

**2.4 标准溶液的配制** 取各种脂溶性维生素标准品适量,精密称定,加流动相溶解,配制浓度分别为维生素 A 棕榈酸酯  $5.64 \times 10^{-1}$  mg/mL、维生素 D<sub>3</sub>  $9.82 \times 10^{-2}$  mg/mL、维生素 E 醋酸酯 1.60 mg/mL 的标准储备液。精密量取储备液 5 mL 置 10 mL 棕色量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得标准混合溶液。临用新配。

**2.5 线性关系考察** 分别取上述标准储备液 2 mL、4 mL、6 mL、8 mL 至 10 mL 棕色量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,得一系列标准混合溶液,各取 20  $\mu$ L 进样,按上述色谱条件进行测定,以峰面积 A 对浓度 C (mg/mL) 进行回归处理。回归方程分别为  
维生素 A 棕榈酸酯  $A = 1.54 \times 10^7 C + 1.75 \times 10^5$ ,  $r = 0.9999$

维生素 D<sub>3</sub>  $A = 5.16 \times 10^7 C + 4.05 \times 10^4$ ,  $r = 0.9999$

维生素 E 醋酸酯  $A = 2.09 \times 10^6 C + 4.19 \times 10^3$ ,  $r = 0.9999$

**2.6 回收率试验** 模拟复合维生素注射液处方,加入处方量 80%、100%、120% 的各种维生素,配制复合维生素注射液,按“样品前处理”项下操作,各取 20  $\mu$ L 进样,按上述色谱条件进行测定。维生素 A 棕榈酸酯、维生素 D<sub>3</sub> 和维生素 E 醋酸酯的平均回收率分别为 99.1%、100.6% 和 99.2%, RSD 分别为 0.19%、0.79% 和 0.52%。

**2.7 精密度实验** 取回收率项下的中浓度供试品溶液,重复进样 5 次,每次 20  $\mu$ L,按“色谱条件”项

下进行测定,峰面积及 RSD (%) 见表 1。

表 1 精密度实验结果

编号	维生素 A 棕榈酸酯	维生素 D <sub>3</sub>	维生素 E 醋酸酯
1	5 727 823	152 230	4 221 986
2	5 729 356	151 937	4 235 263
3	5 725 125	150 152	4 216 255
4	5 714 284	150 014	4 225 825
5	5 738 126	150 321	4 264 854
RSD (%)	0.17	0.56	0.32

**2.8 稳定性实验** 取回收率项下的中浓度供试品溶液,置室温阴暗处保存,分别于 0、2、4、8、12 h 时进行测定,结果标明供试品溶液于室温阴暗处 12 h 内稳定。3 组分峰面积及 RSD (%) 见表 2。

表 2 稳定性实验结果

时间 (h)	维生素 A 棕榈酸酯	维生素 D <sub>3</sub>	维生素 E 醋酸酯
0	5 727 823	152 230	4 221 986
2	5 738 126	150 321	4 264 854
4	5 699 541	152 271	4 219 525
8	5 679 287	149 553	4 192 985
12	5 649 752	149 331	4 198 527
RSD (%)	0.68	0.95	0.65

**2.9 最低检测限** 取“线性关系考察”项下的对照品溶液,进行对倍稀释,取 20  $\mu$ L 进样,按“色谱条件”项下进行测定,以 S/N 为 3 时的量为最低检测限。测得最低检测限分别为:维生素 A 棕榈酸酯 4.5 ng、维生素 D<sub>3</sub> 0.3 ng、维生素 E 醋酸酯 8.7 ng。

表 3 复合维生素注射液中脂溶性维生素含量测定结果 (标示量%)

样品编号	维生素 A 棕榈酸酯	维生素 D <sub>3</sub>	维生素 E 醋酸酯
1	100.3	100.5	100.4
2	100.9	100.8	100.7
3	101.2	101.6	99.6

**2.10 样品测定** 复合维生素注射液按“样品前处理”项下进行处理后,取供试品溶液和标准混合溶液各 20 $\mu$ L,按“色谱条件”项下进行检测。以峰面积外标法定量。测定结果见表 3。

### 3 讨论

**3.1 复合维生素注射液中另含有多种水溶性维生素,为排除水溶性维生素的干扰,我们采用固相萃取法对样品进行预处理,重复性好,回收率高,收集其余部分淋洗液还可用于水溶性维生素的含量测定。**

**3.2 维生素 A 棕榈酸酯极性小,在乙醇中微溶,在氯仿、乙醚、环己烷或石油醚中易溶,若采用含水的**

流动相则色谱柱载样量低,出峰时间长。本文参考文献<sup>[1,2]</sup>,采用非水 RP-HPLC 同时测定维生素 A 棕榈酸酯、维生素 D<sub>3</sub> 和维生素 E 醋酸酯,大大缩短了分析周期,分离效果也很好。

### 参考文献:

- [1] 蒋 晔,刘红菊,郝晓花. 4种脂溶性维生素的非水反相 HPLC 测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(2): 93.  
[2] 郑明慈. 高效液相色谱法同时测定维生素 A, E 和  $\beta$ -胡萝卜素 [J]. 华夏医学, 1999, 12(2): 124.

收稿日期: 2006-06-27

## 采用复合溶媒测定复方硫洗剂的升华硫含量

江日容 (广西医科大学第四附属医院,广西 柳州 545005)

**摘要** 目的:建立测定复方硫洗剂中升华硫含量的紫外分光光度法。方法:采用复合溶媒稀释测定。即取升华硫 0.1 g 加氢氧化钠-稀乙醇(1 $\rightarrow$ 10)溶液 10 mL,于(80 $\pm$ 2)  $^{\circ}$ C 水浴中加热溶解,立即取出、冷却,加水至 100 mL;精密吸取此溶液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加碱-甘油(0.5 mol/L 氢氧化钠:甘油=1:4)至刻度,摇匀,即得每 1 mL 含硫 100  $\mu$ g 的溶液。在 200~800 nm 的波长处扫描,发现硫溶液在 303 nm 和 370 nm 的波长范围内有明显的吸收。结果:选择(370 $\pm$ 2) nm 的波长为测定波长。从而得到硫在 60~120  $\mu$ g/mL 浓度范围内线性关系良好( $r=0.9995$ ),平均回收率为 101.0% ( $n=4$ ), $RSD=1.04\%$ 。结论:采用复合溶媒稀释测定复方硫洗剂的升华硫含量结果较好,值得推广。

**关键词** 复方硫洗剂;升华硫;含量测定;复合溶媒;紫外分光光度法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2007)03-0164-02

复方硫洗剂<sup>[1]</sup>是医院常用的一种外用制剂,它具有保护皮肤、抑制皮脂分泌、轻度杀菌与收敛的作用。主要用于干性皮脂溢出症、痤疮等疾病。因硫在该方中为主要成分,故对其含量控制尤为重要。根据硫的特性,它在水或乙醇中均不溶解,但它可与强碱反应,生成易溶于水的金属硫化物和硫代硫酸盐<sup>[2]</sup>。反应方程式为:  $4S + 6NaOH = Na_2S_2O_3 + 2Na_2S + 3H_2O$ 。生成物溶液为黄色,经扫描发现,在 303 nm 和 370 nm 的波长处有明显的吸收,最大吸收波长为 303 nm(见图 1)。

但是,在 303 nm 的波长处测定稳定性较差,且溶媒在此处有比较明显的吸收;而在 370 nm 的波长处测定稳定性较好,溶媒吸收也很少。因此,选择 370 nm 的波长为测定波长。从而建立复方硫洗剂中升华硫含量测定的紫外分光光度法。

### 1 仪器与试剂

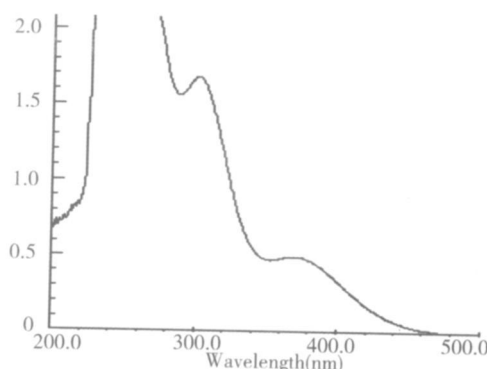


图 1 金属硫化物与硫代硫酸盐溶液的紫外光谱图

紫外分光光度计(日本岛津 2401-PC),电热恒温水浴锅(北京市医疗设备厂),电子天平(赛多利斯),升华硫(南昌白云医药化工有限公司分装,批号 20030328),氢氧化钠 AR(汕头市光华化学厂,