

# HPLC法测定烟酸片中烟酸的含量

王丹或<sup>1\*</sup>,王萌萌<sup>2</sup>,马迪<sup>2</sup>,王超众<sup>3</sup>(1.四平市食品药品检验所,吉林四平 136000;2.齐齐哈尔市第一医院,黑龙江齐齐哈尔 161005;3.齐齐哈尔市食品药品检验检测中心,黑龙江齐齐哈尔 161005)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)16-1515-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.16.23

**摘要** 目的:建立测定烟酸片中烟酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent C<sub>18</sub>,流动相为0.02 mol/L磷酸二氢钾(pH 6.8)-乙腈(90:10, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为28 ℃,进样量为20 μl,检测波长为261 nm。结果:烟酸检测质量浓度在5.004~100.08 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.999\ 8$ );平均加样回收率为99.2%,RSD=0.9%( $n=9$ )。结论:该法简便、准确、重复性好,适用于烟酸片的质量控制。

**关键词** 烟酸片;烟酸;高效液相色谱法;含量测定;质量控制

## Content Determination of Nicotinic Acid in Nicotinic Acid Tablets by HPLC

WANG Dan-yu<sup>1</sup>, WANG Meng-meng<sup>2</sup>, MA Di<sup>2</sup>, WANG Chao-zhong<sup>3</sup>(1.Siping Institute for Food and Drug Control, Jilin Siping 136000, China; 2.The First Hospital of Qiqihar, Heilongjiang Qiqihar 161005, China; 3.Qiqihar Institute for Food and Drug Control, Heilongjiang Qiqihar 161005, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of nicotinic acid in Nicotinic acid tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The separation was performed on Agilent-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of 0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate (pH 6.8)-acetonitrile (90:10, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 28 ℃, and the injection volume was 20 μl. The detection wavelength was set at 261 nm. RESULTS: The linear range of nicotinic acid was 5.004-100.08 μg/ml ( $r=0.999\ 8$ ) with an average recovery of 99.2% (RSD=0.9%,  $n=9$ ). CONCLUSION: The method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the quality control of Nicotinic acid tablets.

**KEY WORDS** Nicotinic acid tablets; Nicotinic acid; HPLC; Content determination; Quality control

烟酸天然品存在于动物肝脏或肾脏中,具有扩张周围血管的作用,用于预防和治疗烟酸缺乏症,如糙皮、痤疮等<sup>[1-2]</sup>。烟酸片现行质量标准收载于《中国药典》2010年版(二部),采用酸碱滴定法测定含量<sup>[3]</sup>;《欧洲药典》6.0版<sup>[4]</sup>也收载了烟酸片,采用滴定法测定含量;另有文献<sup>[5]</sup>报道用紫外法测定烟酸片的含量。而本文笔者建立了以高效液相色谱(HPLC)法测定烟酸片中烟酸含量的方法,并证明本法简便、准确、重复性好,可有效控制烟酸片产品的质量。

## 1 材料

Agilent 1100 Series HPLC仪,包括真空脱气机、四元梯度泵、自动进样器、WVD紫外检测器、ChemStation工作站(美国安捷伦公司);BP211D电子天平(德国赛多利斯公司);KQ-1000型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

烟酸对照品(中国食品药品检定研究院提供,批号:100434-201102);烟酸片(天津立生制药股份有限公司,批号:0807007;临汾宝珠制药有限公司,批号:0905020;山西威奇达药业有限公司,批号:0902019,规格均为50 mg);乙腈(色谱纯,美国Fisher公司);磷酸二氢钾(分析纯,天津市北辰方正化学试剂厂);其他试剂均为分析纯,水为纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

\* 副主任药师,本科。研究方向:药物分析。电话:0452-2713520。E-mail:zhangliancheng\_ren@163.com

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相:0.02 mol/L磷酸二氢钾(pH 6.8)-乙腈(90:10, V/V);检测波长:261 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:28 ℃;进样量:20 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取烟酸对照品约25 mg,精密称定,置于100 ml量瓶中,加流动相70 ml超声10 min使溶解,放冷,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 ml,置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取烟酸片20片,研细,精密称取细粉适量(约相当于烟酸25 mg),置于100 ml量瓶中,加流动相70 ml超声10 min使溶解,放冷,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 ml,置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例制备不含烟酸的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

### 2.3 专属性考察

按“2.1”项下色谱条件,取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液进样,记录色谱,详见图1。结果,阴性对照对烟酸的含量测定结果无干扰。理论板数按烟酸峰计为3 800。

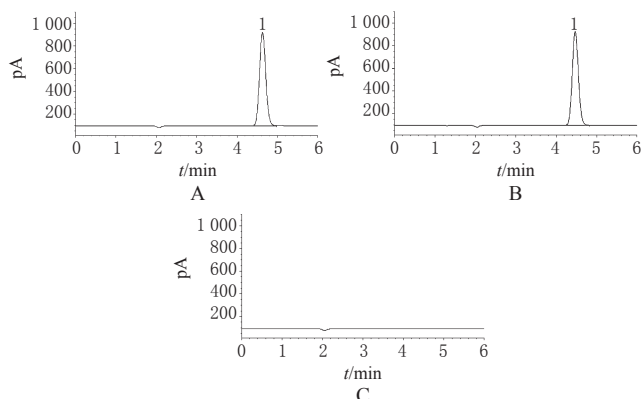


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 烟酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. nicotinic acid

## 2.4 线性关系考察

精密称取烟酸对照品 25.02 mg, 置于 50 ml 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液 (烟酸质量浓度为 500.4 μg/ml)。分别精密量取上述贮备液 1、2、5、10、20 ml, 分别置于 100 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 各进样 20 μl, 记录色谱。以检测质量浓度 ( $x$ , μg/ml) 为横坐标, 峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程  $y=306.9x-0.9327$  ( $r=0.9998$ )。结果表明, 烟酸检测质量浓度在 5.004~100.08 μg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

## 2.5 定量限和检测限

逐步稀释“2.4”项下对照品贮备液, 进样测定, 记录色谱, 以信噪比为 3:1 和 10:1 分别计算检测限和定量限。结果, 烟酸的检测限和定量限分别为 3.3 ng 和 10.0 ng。

## 2.6 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下的对照品溶液 20 μl, 重复进样 6 次, 测定。结果,  $RSD=0.5\%$ , 表明仪器精密度良好。

## 2.7 重复性试验

取同一批样品 (批号: 0807007) 适量, 分别按“2.2.2”项下方法配制 6 份供试品溶液, 分别进样测定。结果,  $RSD=0.6\%$ , 表明该方法重复性良好。

## 2.8 稳定性试验

取同一批样品 (批号: 0807007) 适量, 按“2.2.2”项下方法配制成供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、24 h 进样, 测定。结果,  $RSD=0.6\%$ , 表明 24 h 内供试品溶液稳定性良好。

## 2.9 加样回收率试验

取已知含量的同一批样品 (批号: 0807007), 研细, 精密称取细粉适量 (约相当于烟酸 25 mg), 置于 100 ml 量瓶中, 共 9 份, 分别精密加入烟酸对照品约 20、25、30 mg 各 3 份, 按“2.2.2”项下方法配制供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。

## 2.10 样品含量测定

分别取 3 批样品适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定, 以外标法分别计算烟酸含量; 另取 3 批样品按《中国药典》2010 年版 (二部) 烟酸片含量测定项下方法 (酸碱滴定法) 测定含量, 并将 2 次测定结果进行比较, 详见表 2。

## 3 讨论

表 1 加样回收率试验结果 ( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery tests ( $n=9$ )

称样量, g	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.2324	24.81	20.12	44.81	99.4		
0.2339	24.97	20.04	44.79	98.9		
0.2351	25.10	20.29	45.04	98.3		
0.2335	24.93	25.18	50.13	100.1		
0.2320	24.77	25.67	49.87	97.8	99.2	0.9
0.2328	24.85	25.30	49.90	99.0		
0.2347	25.06	30.37	55.12	99.0		
0.2310	24.66	30.19	55.07	100.7		
0.2277	24.31	30.03	54.15	99.4		

表 2 样品含量测定结果 ( $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of samples ( $n=3$ )

批号	HPLC法		酸碱滴定法	
	含烟酸的量, %	RSD, %	含烟酸的量, %	RSD, %
0807007	98.9	0.5	99.6	0.4
0905020	100.6	0.4	101.4	0.5
0902019	98.6	0.6	99.7	0.4

## 3.1 检测波长的选择

烟酸对照品紫外扫描最大吸收波长为 261 nm。所以, 选择 261 nm 为检测波长, 能更准确地测定烟酸的含量。

## 3.2 流动相的选择

笔者曾比较多种流动相系统: 甲醇-水、乙腈-水、甲醇-庚烷磺酸钠溶液<sup>[6]</sup>、乙腈-磷酸二氢钾溶液 (内含四丁基溴化铵)<sup>[7]</sup>, 另有文献报道磷酸二氢钾 (pH 6.8)-乙腈可改善峰形<sup>[8]</sup>。结果表明, 采用磷酸二氢钾 (pH 6.8)-乙腈作为流动相时能得到较好的峰形。最终选择 0.02 mol/L 磷酸二氢钾 (pH 6.8)-乙腈 (90:10, V/V) 作为流动相, 该 pH 值既对色谱柱寿命有益, 又能得到很好的峰形。

## 3.3 与《中国药典》2010 年版 (二部) 方法比较

《中国药典》2010 年版 (二部) 收录烟酸片的含量测定方法为酸碱滴定法, 而本试验建立了 HPLC 法测定其含量。结果表明, 使用 HPLC 法测定烟酸的含量与酸碱滴定法测定结果一致, 且操作简便、专属性强, 能够更好地控制产品质量。

## 参考文献

- [1] 姜浩, 李昌仪. 烟酸片治疗寻常型痤疮的临床观察[J]. 中国美容医学, 2009, 18(1): 88.
- [2] 孙定人, 张石革. 维生素 P (烟酸) 缺乏症 (糙皮病) 与补充维生素 P[J]. 中国药房, 2003, 14(5): 319.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 858.
- [4] European Pharmacopoeia Commission. *European Pharmacopoeia*: 6.0[S]. 2008: 2 502.
- [5] 文丽丽, 张立升, 吕文军. 紫外分光光度法测定烟酸片含量[J]. 哈尔滨医药, 2012, 32(1): 14.
- [6] 姜启娟, 于艳, 张栋. HPLC 法测定决明降脂片中烟酸的含量[J]. 中国药事, 2008, 22(7): 570.
- [7] 张虹, 方昱, 李英, 等. RP-HPLC 法测定人血浆中烟酸的浓度[J]. 中国药房, 2010, 21(42): 3 972.
- [8] 张庆合. 高效液相色谱图谱实用手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 170.

(收稿日期: 2012-10-20 修回日期: 2013-02-18)