

# 高效液相色谱法测定薇依霜中维生素E和羟苯乙酯含量

傅若秋<sup>1</sup>, 孟德胜<sup>1</sup>, 卢来春<sup>1</sup>, 余孟君<sup>1</sup>, 欧阳冰<sup>1</sup>, 鞠桦<sup>2</sup>

(1. 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院, 重庆 400042; 2. 安徽蚌埠医学院药理学系, 安徽 蚌埠 233030)

**摘要:** 目的 建立测定薇依霜中维生素E和羟苯乙酯含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 维生素E测定以甲醇为流动相, 流速为 2.0 mL/min, 紫外检测波长为 285 nm; 羟苯乙酯测定以甲醇:水(45:55)为流动相, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 258 nm。结果 维生素E质量浓度在 0.0996~0.498 g/L 范围内与峰面积线性关系良好,  $r=0.9995$  ( $n=5$ ), 平均回收率为 99.25%,  $RSD$  为 1.21% ( $n=9$ ); 羟苯乙酯质量浓度在 2.16~10.80 μg/mL 进样范围内与峰面积线性关系良好,  $r=0.9997$  ( $n=5$ ), 平均回收率为 100.31%,  $RSD$  为 1.02% ( $n=9$ )。结论 所建立的方法简便、专属性强, 重现性好, 可有效控制薇依霜的质量。

**关键词:** 维生素E; 羟苯乙酯; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R927.2; R986

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2012)07-0012-02

## Determination of Vitamin E and Ethylparaben in Weiyi Cream by HPLC

Fu Ruqiu<sup>1</sup>, Meng Desheng<sup>1</sup>, Lu Laichun<sup>1</sup>, Yu Mengjun<sup>1</sup>, Ouyang Bing<sup>1</sup>, Ju Hua<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacy, the Third Affiliated Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, China 400042;

2. Department of Pharmacy, Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui, China 233030)

**Abstract:** **Objective** To establish an HPLC method for content determination of vitamin E and ethylparaben in Weiyi Cream. **Methods** Diamonsil C<sub>18</sub> column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. For vitamin E determination, the mobile phase was methanol with flow rate of 2.0 mL/min, the detection wave length was set at 285 nm. For ethylparaben determination the mobile phase was methanol-water(45:55) with flow rate of 1.0 mL/min, the detection wave length was set at 258 nm. **Results** The linear range of vitamin E was 0.0996-0.498 g/L ( $r=0.9995$ ), and the average recovery was 99.25% with  $RSD$  of 1.21% ( $n=9$ ). The linear range of ethylparaben was 2.16-10.80 μg/mL ( $r=0.9997$ ), and the average recovery was 100.31% with  $RSD$  of 1.02% ( $n=9$ ). **Conclusion** The method is convenient, selective and reproducible for determination of vitamin E and ethylparaben in Weiyi cream.

**Key words:** vitamin E; ethylparaben; HPLC; content determination

薇依霜为医院传统护肤制剂,具有防止皮肤萎缩、保湿防皱、营养皮肤、抗衰老等作用。其主要成分为维生素E(含量为2%),且含有羟苯乙酯(含量为0.1%)作为防腐剂。为对其进行质量控制,笔者参照有关文献方法<sup>[1-2]</sup>,采用高效液相色谱(HPLC)法测定了维生素E和羟苯乙酯的含量,现报道如下。

### 1 仪器与试剂

Gold System 高效液相色谱仪(美国贝克曼),包括 125 泵、166 紫外检测器; Sartorius BT 25S 型电子分析天平(德国赛多利斯); RE-201C 型恒温水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司); KQ-50B 型超声波清洗仪(昆明市超声仪器有限公司)。维生素E对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 100062-200608); 羟苯乙酯对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 100847-200501); 薇依霜(第三军医大学第三附属医院自制,批号分别为 091112, 091217, 091123); 甲醇(色谱纯,SK Chemicals 公司); 水为超纯水,其余试剂为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

维生素E测定色谱条件: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇; 紫外检测波长: 285 nm; 流速: 2.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。羟苯乙酯测定色谱条件: Diamonsil C<sub>18</sub>

柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(45:55); 紫外检测波长: 258 nm; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。

#### 2.2 溶液配制

精密称取维生素E对照品 0.0249 g,置 25 mL 容量瓶中,加无水乙醇溶解定容,得质量浓度为 0.996 g/L 的维生素E对照品溶液。精密称取羟苯乙酯对照品 0.0108 g,置 50 mL 容量瓶中,加无水乙醇溶解定容,作为对照品贮备液;精密吸取对照品贮备液 5 mL,置 50 mL 容量瓶中,加无水乙醇定容,得质量浓度为 21.6 μg/mL 的羟苯乙酯对照品溶液。精密称取薇依霜 0.1 g,置 10 mL 量瓶中,加适量无水乙醇溶解,超声处理 1 h,冷却至室温,定容,摇匀,微孔滤器(0.22 μm)滤过,续滤液作为供试品溶液。测定维生素E时,供试品溶液不用稀释;测定羟苯乙酯时,供试品溶液需用无水乙醇稀释 2 倍。按处方比例配制缺维生素E的制剂,再按供试品溶液制备方法制成不含维生素E的阴性对照品溶液。按处方比例配制缺羟苯乙酯的制剂,再按供试品溶液制备方法制成不含羟苯乙酯的阴性对照品溶液。

#### 2.3 方法学考察

专属性考察:分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样,记录色谱图。结果见图 1、图 2。可见,待测成分与其他物质分离良好,分离度大于 1.5,维生素E和

医药,2000,11(2): 109-110.

[5] 才玉婷,武蕾蕾,王晶华,等. 茯苓多糖提取方法研究进展[J]. 牡丹江医学院学报,2009,30(6): 58-60.

[6] 张怡莎,陈华国,周欣. 不同产地茯苓及茯苓皮中多糖成分的研究[J]. 贵州师范大学学报,2010,28(3): 101-103.

[7] 石延榜,赵娟,贺海花. 茯苓饮片规格的研究[J]. 中国实用医药,

2008,3(12): 200-201.

[8] 卫华,赵声兰,赵荣华,等. 云南不同产地茯苓中多糖的含量测定[J]. 云南中医学院学报,2009,32(4): 25-27.

[9] 周燕霞,唐明林,殷辉安. 茯苓中多糖的提取及含量测定[J]. 天然产物研究与开发,2003,15(4): 330-333.

(收稿日期: 2011-09-11; 修回日期: 2011-10-20)

羟苯乙酯的保留时间分别为 13.6 min 和 18.6 min, 阴性对照品溶液色谱在待测成分相应位置无干扰峰, 表明其他成分对待测成分的测定无干扰。

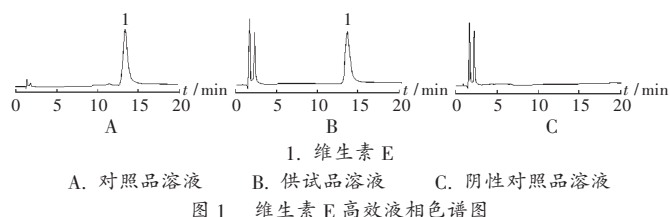


图1 维生素E高效液相色谱图

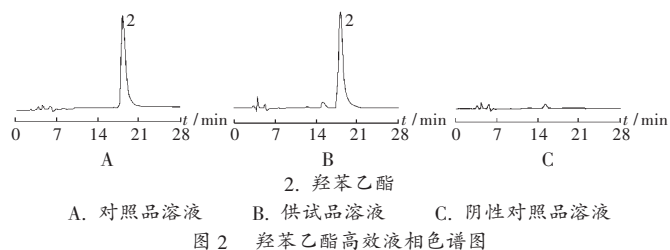


图2 羟苯乙酯高效液相色谱图

线性关系考察: 分别精密吸取维生素E对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加无水乙醇定容, 配制得 5 个不同梯度的对照品工作溶液 (0.099 6, 0.199, 0.299, 0.398, 0.498 g/L), 按 2.1 项下色谱条件分别进样, 记录维生素E峰面积, 以峰面积 (A) 对质量浓度 (C, g/L) 进行线性回归, 得回归方程  $A = 32.2418C + 0.1669$ ,  $r = 0.9995$  ( $n = 5$ )。结果表明, 维生素E进样质量浓度在 0.099 6 ~ 0.498 g/L 范围内与峰面积线性关系良好。分别精密吸取羟苯乙酯对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加无水乙醇定容, 配制得 5 个不同梯度的对照品工作溶液 (2.16, 4.32, 6.48,

8.64, 10.80  $\mu\text{g/mL}$ ), 按 2.1 项下色谱条件分别进样, 记录羟苯乙酯的峰面积, 以峰面积 (A) 对质量浓度 (C,  $\mu\text{g/mL}$ ) 进行线性回归, 得回归方程  $A = 2.1222C + 0.01031$ ,  $r = 0.9997$  ( $n = 5$ )。结果表明, 羟苯乙酯进样质量浓度在 2.16 ~ 10.80  $\mu\text{g/mL}$  范围内与峰面积线性关系良好。

精密密度试验: 取维生素E高 (0.398 g/L)、中 (0.299 g/L)、低 (0.199 g/L) 3 个质量浓度的对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件于 1 d 内连续进样 5 次, 以及连续 5 d 分别进样, 考察日内精密度和日间精密度。结果日内精密度  $RSD < 1.18\%$  ( $n = 5$ ), 日间精密度  $RSD < 1.72\%$  ( $n = 5$ )。取羟苯乙酯高 (8.64  $\mu\text{g/mL}$ )、中 (6.48  $\mu\text{g/mL}$ )、低 (4.32  $\mu\text{g/mL}$ ) 3 个质量浓度的对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件于 1 d 内连续进样 5 次, 以及连续 5 d 分别进样, 考察日内精密度和日间精密度。结果日内精密度  $RSD < 1.57\%$  ( $n = 5$ ), 日间精密度  $RSD < 2.45\%$  ( $n = 5$ )。

稳定性试验: 取同一供试品溶液, 室温放置 0, 6, 12, 24 h, 依法进样测定峰面积。结果维生素E峰面积的  $RSD = 1.67\%$ , 羟苯乙酯峰面积的  $RSD = 1.23\%$ , 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

重复性试验: 取同一批样品 (批号为 091112) 5 份, 依法制备供试品溶液并进样, 记录峰面积。结果维生素E峰面积的  $RSD = 1.91\%$  ( $n = 5$ ), 羟苯乙酯峰面积的  $RSD = 1.57\%$  ( $n = 5$ )。

加样回收试验: 精密称取已知维生素E含量的同一批样品 1 g (批号为 091112) 共 9 份, 每 3 份为一组, 分别加入不同质量浓度维生素E对照品溶液 1.0 mL, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液并进样, 计算加样回收率。精密称取已知羟苯乙酯含量的同一批样品 0.03 g (批号为 091112) 共 9 份, 每 3 份为一组, 分别加入不同质量浓度羟苯乙酯对照品溶液各 1.0 mL, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液并进样, 计算加样回收率。结果见表 1。

表1 维生素E与羟苯乙酯加样回收试验结果 ( $n = 6$ )

样品含量 (g/L)		加入量 (g/L)		测得量 (g/L)		回收率 (%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.181	2.88	0.163	2.38	0.343	5.30	99.39	101.38				
0.181	2.88	0.163	2.38	0.344	5.26	100.00	100.00				
0.181	2.88	0.203	3.02	0.379	5.94	97.53	101.32	99.25	100.31	1.21	1.02
0.181	2.88	0.203	3.02	0.380	5.90	98.02	100.00				
0.182	2.88	0.244	3.67	0.427	6.57	100.54	100.54				
0.181	2.88	0.244	3.67	0.425	6.50	100.00	98.63				

注: A 为维生素E, B 为羟苯乙酯。

## 2.4 样品含量测定

取微霜样品 3 批, 按 2.2 项下制备供试品溶液, 按 2.1 项下的色谱条件进样测定, 计算维生素E和羟苯乙酯的含量。结果维生素E和羟苯乙酯含量分别为标示量的  $(99.9 \pm 0.72)\%$  和  $(98.84 \pm 2.87)\%$  ( $n = 3$ )。

## 3 讨论

曾考察了乙腈-甲醇对维生素E的分离效果, 发现维生素E的保留时间随乙腈含量的增加而延长, 当乙腈为 100%、流速为 1.5 mL/min 时, 保留时间达 43.5 min。而用甲醇作流动相、流速为 1.5 mL/min 时, 保留时间为 18.5 min, 当流速增加到 2.0 mL/min 时, 保留时间降到 13.6 min, 且峰形较好。因此本试验选择甲醇为流动相, 并将流速设为 2.0 mL/min。

羟苯乙酯测定时, 考察了不同比例甲醇-水作为流动相时的分离效果, 当甲醇-水为 50:50 时, 羟苯乙酯与样品中的干扰物质 (主要为香精) 的色谱峰重叠, 无法分离; 当甲醇-水为

45:55、流速为 1.0 mL/min 时, 可以较好分离, 保留时间为 18.6 min。

曾采用乙醇为溶剂、80℃水浴溶解、冷藏后离心取上清液的方法, 但试验中发现样品分散溶解不完全, 且离心分离效果不好, 上清液中不溶性杂质不易去除, 容易堵塞色谱柱。后改为超声促溶并用微孔滤膜过滤的方式处理样品, 通过加样回收试验证明该方法稳定、可靠。

作者简介: 傅若秋 (1971-), 男, 主管药师, 研究方向为医院制剂, (电子信箱) zxmfrq@163.com。

## 参考文献:

- [1] 胡守莲, 范玉峰. HPLC 法测定维生素E搽剂中维生素E的含量[J]. 中国当代医药, 2009, 16(10): 5-6.
- [2] 简炎林, 邹国芳. 医院制剂中防腐剂羟苯乙酯的含量测定[J]. 中国药房, 2009, 20(13): 1016-1017.

(收稿日期: 2011-05-18; 修回日期: 2011-08-19)