

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.01.017

高效液相色谱法同时测定五味子糖浆中 五味子醇甲及苯甲酸钠含量

李玲, 赵猛, 王秋实

(江苏省连云港市食品药品检验检测中心, 江苏 连云港 222006)

摘要:目的 建立同时测定五味子糖浆中五味子醇甲及苯甲酸钠含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Phenomenex Gemini C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 1% 三乙胺溶液(用磷酸调 pH 至 3.0) - 甲醇(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 250 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL。结果 五味子醇甲和苯甲酸钠质量浓度分别在 7.85 ~ 117.70 μg/mL 和 47.58 ~ 713.80 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%; 平均加样回收率分别为 100.16%, 98.55%, RSD 分别为 0.89%, 1.53% (n=9)。结论 该方法简便、准确, 可同时测定五味子糖浆中五味子醇甲及苯甲酸钠的含量。

关键词: 高效液相色谱法; 五味子糖浆; 五味子醇甲; 苯甲酸钠; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)01-0057-03

Simultaneous Determination of Schisandrin and Sodium Benzoate in Wuweizi Syrup by HPLC

LI Ling, ZHAO Meng, WANG Qiushi

(Lianyungang Institute for Food and Drug Control, Lianyungang, Jiangsu, China 222006)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the simultaneous determination of schisandrin and sodium benzoate in Wuweizi Syrup. **Methods** The chromatographic column was Phenomenex Gemini C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 1% triethylamine aqueous solution(adjusted to pH 3.0 with phosphoric acid) - methanol with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 250 nm. The column temperature was 30 ℃ and the injection volume was 10 μL. **Results** Schisandrin and sodium benzoate showed good linear relationship with the peak area within the range of was 7.85 - 117.70 μg/mL, 47.58 - 713.80 μg/mL respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all less than 2%, the average recovery rates were 100.16%, 98.55%, and the RSDs were 0.89%, 1.53%, respectively (n=9). **Conclusion** The method is simple and accurate, which can be used for the simultaneous determination of schisandrin and sodium benzoate in Wuweizi Syrup.

Key words: HPLC; Wuweizi Syrup; schisandrin; sodium benzoate; content determination

五味子糖浆处方收载于 2015 年版《中国药典(一部)》^[1], 由五味子单味药材经加工并添加防腐剂及香精等辅料制成。五味子醇甲为其中主要活性成分^[2], 苯甲酸钠为其中的防腐剂。过量摄入防腐剂对人体有一定的毒性, 在某些国家已限制或禁止使用^[3]。本研究参考文献[4-5], 建立高效液相色谱法同时对五味子糖浆中的五味子醇甲和苯甲酸钠进行含量测定, 为提高制剂质量标准提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

e2695 型高效液相色谱仪, 包括 2998 二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司); BP211D 型十万分之一电子分析天平(德国 Sartorius 公司); Seven Multi 型酸度计(瑞士 Mettler Toledo 公司); KH-700DE 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

五味子糖浆(广西邦琪药业集团有限公司, 批号为

171010; 太极集团四川南充制药有限公司, 批号为 2017006; 三门峡广宇生物制药有限公司, 批号为 170901; 上海海虹实业集团巢湖今辰药业有限公司, 批号为 180506, 180915); 五味子醇甲对照品(批号为 110857-201815, 含量 99.7%), 苯甲酸钠对照品(批号为 100433-201702, 含量 99.7%), 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

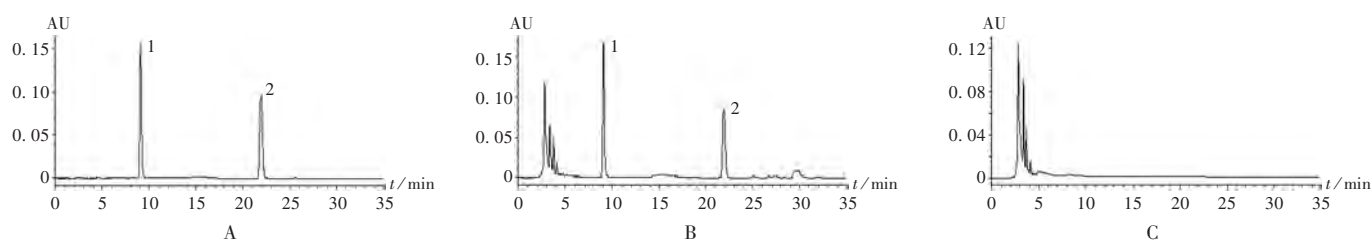
2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Phenomenex Gemini C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 1% 三乙胺溶液(用磷酸调 pH 至 3.0, A) - 甲醇(B), 梯度洗脱(0 ~ 10 min 时 55% A, 10 ~ 12 min 时 55% A → 40%, 12 ~ 35 min 时 40% A); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 250 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μL。

2.2 溶液制备

分别称取待测成分对照品各适量, 精密称定, 置同一



1. 苯甲酸钠 2. 五味子醇甲
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

100 mL 容量瓶中,加甲醇超声(功率 250 W,频率 40 kHz,下同)处理,放冷至室温,加甲醇定容,摇匀,即得五味子醇甲和苯甲酸钠质量浓度分别为 0.196 2 mg/mL 和 1.190 0 mg/mL 的混合对照品贮备液;精密量取 5 mL,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得混合对照品溶液。精密量取样品 5 mL,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇 20 mL,超声处理 20 min,放冷至室温,加甲醇定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方和工艺制备缺五味子和苯甲酸钠的阴性样品,依法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:取混合对照品溶液、供试品溶液各适量,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,见图 1。理论板数按五味子醇甲峰和苯甲酸钠峰计均不低于 3 000;分离度均大于 1.5,基线分离良好。

专属性试验:取混合对照品溶液、阴性对照品溶液各适量,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,见图 1。阴性对照品溶液在与混合对照品溶液相同保留时间处无干扰峰,表明方法专属性良好。

线性关系考察:精密吸取混合对照品贮备液 1, 2, 5, 10, 15 mL,分别置 25 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液;精密吸取 10 μ L,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标、待测成分质量浓度(X , μ g/mL)为横坐标进行线性回归,得五味子醇甲和苯甲酸钠回归方程分别为 $Y_1 = 22\,157X_1 - 16\,685$ ($r_1 = 0.999\,9$)和 $Y_2 = 3\,713X_2 - 14\,993$ ($r_2 = 0.999\,9$)。结果表明,五味子醇甲和苯甲酸钠质量浓度分别在 7.85~117.70 μ g/mL 和 47.58~713.80 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取同一混合对照品溶液适量,按拟订色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果五味子醇甲和苯甲酸钠峰面积的 RSD 分别为 0.48% 和 0.26% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液(批号为 180915)适量,分别于室温下放置 0, 2, 6, 12, 18 h 时按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果五味子醇甲和苯甲

酸钠峰面积的 RSD 分别为 1.45% 和 0.78% ($n = 5$),表明供试品溶液在室温放置 18 h 内基本稳定。

重复性试验:精密称取样品(批号为 180915)6 份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果五味子醇甲和苯甲酸钠含量的 RSD 分别为 0.56% 和 0.84% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为 180915)5 mL,共 6 份,分别加入低、中、高质量浓度的混合对照品贮备液,依法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率。结果见表 1。

表1 加样回收试验结果($n = 9$)

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.965	5.900	0.782	4.746	1.743	10.511	99.49	97.16				
0.965	5.900	0.782	4.746	1.736	10.466	98.59	96.21				
0.965	5.900	0.782	4.746	1.750	10.534	100.38	97.64				
0.965	5.900	0.978	5.932	1.956	11.716	101.33	98.04				
0.965	5.900	0.978	5.932	1.949	11.703	100.61	97.83	100.16	98.55	0.89	1.53
0.965	5.900	0.978	5.932	1.938	11.816	99.49	99.73				
0.965	5.900	1.174	7.119	2.154	13.002	101.28	99.76				
0.965	5.900	1.174	7.119	2.138	13.072	99.91	100.74				
0.965	5.900	1.174	7.119	2.143	13.005	100.34	99.80				

注:A 为五味子醇甲,B 为苯甲酸钠。

2.4 样品含量测定

取样品各适量,分别依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,平行测定 3 次,记录峰面积并计算样品含量。结果见表 2。

表2 样品含量测定结果(mg/mL)

批号	五味子醇甲	苯甲酸钠	批号	五味子醇甲	苯甲酸钠
2017006	0.397	2.75	180506	0.188	1.22
171010	0.139	2.63	180915	0.193	1.18
170901	0.320	2.86			

3 讨论

对五味子醇甲和苯甲酸钠进行全波长扫描,结果显