

· 中药工业 ·

HPLC 法同时测定 31 批次消栓口服液中 6 种防腐剂的含量

张府君^{1*}, 冯贞², 王海花¹, 程永杰¹, 王丕明¹

1. 山西药科职业学院, 山西 太原 030031; 2. 山西省食品药品检验所, 山西 太原 030006

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱(HPLC)法同时测定消栓口服液中 6 种防腐剂的方法; 方法: 采用自制色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 规格为 5 μm , 4.6 $\times$ 250 mm, 以 A 为乙腈, B 为 0.02 mol/L 乙酸铵溶液为流动相, 进行梯度洗脱, 检测波长为 240 nm。结果: 31 批次消栓口服液均未检出与除苯甲酸以外 5 种对照品保留时间及紫外光谱图均相一致的非法添加物; 结论: 本方法阴性无干扰, 专属性、耐用性及检出灵敏度均好, 可用于消栓口服液中非法添加防腐剂物质的检查。

[关键词] 防腐剂; 消栓口服液; HPLC

[中图分类号] R284.1; R944.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)04-0528-04

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20181106003

Content Determination of Six Preservatives in 31 Batches Xiao Shuan Oral Liquid by HPLC

ZHANG Fu-jun^{1*}, FENG Zhen², WANG Hai-hua¹, CHENG Yong-jie¹, WANG Pi-ming¹

1. Department of Traditional Chinese Medicine Shanxi Pharmaceutical College, Taiyuan 030031, China;

2. Shanxi Provincial Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030006, China

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC determination method of six preservatives in Xiao Shuan oral liquid. **Methods:** using self-made chromatographic column, octadecylsilane chemically bonded silica as filler(Chromatographic column 5 μm , 4.6 $\times$ 250 mm), mobile phase in gradient elution A of acetonitrile and B of 0.02 mol/L ammonium acetate solution with detection wavelength of 240 nm. **Results:** In 31 batches samples, there were no illegal additives detected except benzoic acid. **Conclusion:** There is no negative interference in the established method, It is specific, durable and sensitive, can be used to inspect the illegal preservative in Xiao Shuan oral liquid.

[Keywords] preservative; Xiao Shuan oral liquid; HPLC

近年来,随着人们安全意识的不断提高,药品中的添加剂的问题备受瞩目。而含有蛋白质、糖类、等营养物质的中药口服液体剂,因其药品中的营养成分极易引起微生物的生长和繁殖,防腐剂的加入恰好能有效抑制微生物的生长与繁殖,从而延长保存时间。为了患者用药的安全性,不仅有必要控制中药口服液体剂中防腐剂的使用及用量,还要筛查有无他类防腐剂的非法添加,对保障临床用药安全具有重要意义。^[1]

消栓口服液收载于 2015 年版《中华人民共和

国药典》一部中的成方制剂,由黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红花等七味中药组成,具补气活血通络功效,常用于中风气虚血瘀症^[2]。在消栓口服液的现行标准中有加入防腐剂苯甲酸钠及加入量的描述,但没有收载相应的检查方法^[3]。本实验设计同时测定中药口服液体剂中的 6 种防腐剂,分别为标准规定加入的苯甲酸以及其他 5 种要筛查的他类常见防腐剂,包括山梨酸钾、羟苯甲酯、羟苯乙酯、羟苯丙酯、对羟基苯甲酸丁酯。

* [通信作者] 张府君,执业药师,研究方向:中药物质基础及质量控制研究; E-mail: zhangfujun0910@126.com

1 仪器、试剂与试药

1.1 仪器与试剂

Waters Alliance E2695 高效液相色谱系统；乙腈为色谱纯，乙酸铵为分析纯，水为纯化水。

1.2 试药

对照品：苯甲酸、山梨酸钾、羟苯甲酯、羟苯乙酯、羟苯丙酯、对羟基苯甲酸丁酯 6 种对照品均购自中国食品药品检定研究院。苯甲酸对照品(批号：100419-201703, 99.9%)、山梨酸钾对照品(批号：101075-201602, 99.7%)、羟苯甲酯对照品(批号：100278-201705)、羟苯乙酯对照品(批号：100847-201604, 99.9%)、羟苯丙酯对照品(批号：100444-201403, 99.6%)、对羟基苯甲酸丁酯对照品(批号：110792-200503)。

样品：31 批次消栓口服液均为市售。

阴性样品：取消栓口服液处方中各药味，模拟 2015 年版《中华人民共和国药典》一部消栓口服液项下[制法]，制备，即得。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 标准溶液的制备 取苯甲酸对照品、羟苯甲酯对照品、羟苯乙酯对照品、羟苯丙酯对照品、对羟基苯甲酸丁酯各 10 mg，分别置 25 mL 量瓶中，加甲醇适量使溶解后，定容，摇匀，备用；另取山梨酸钾对照品 10 mg，置 10 mL 量瓶中，加甲醇适量使溶解后，定容，摇匀，备用。

精密量取上述苯甲酸对照品溶液 10 mL、山梨酸钾对照品溶液 1 mL 及其余 4 种对照品溶液各 5 mL，置 50 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，即得。

标准溶液的浓度配制在以上浓度，进样 10 μL ，峰面积较适中，易于检出和判断(见图 1)。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密量取样品原液 1 mL，加水稀释至 10 mL，摇匀，作为供试品溶液。

2.1.3 阴性对照品的制备 按消栓口服液处方比例和制备工艺，取处方中各药材模拟 2015 年版《中华人民共和国药典》一部消栓口服液项下的[制法]，自制不含防腐剂的消栓口服液阴性样品，即得。

2.2 色谱条件

色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(色谱柱规格为 5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm)；流动相：以 A 为乙腈，B 为 0.02 mol $\cdot$ L⁻¹ 乙酸铵溶液，进行梯度洗脱^[1]，梯度程序 0 ~ 30 min，流动相 A 为 4% ~ 85%，流动相 B 为 96% ~ 15%；柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ，检测波长为 240 nm，同时用 PDA 监测，波长扫描范围 190 ~ 400 nm。

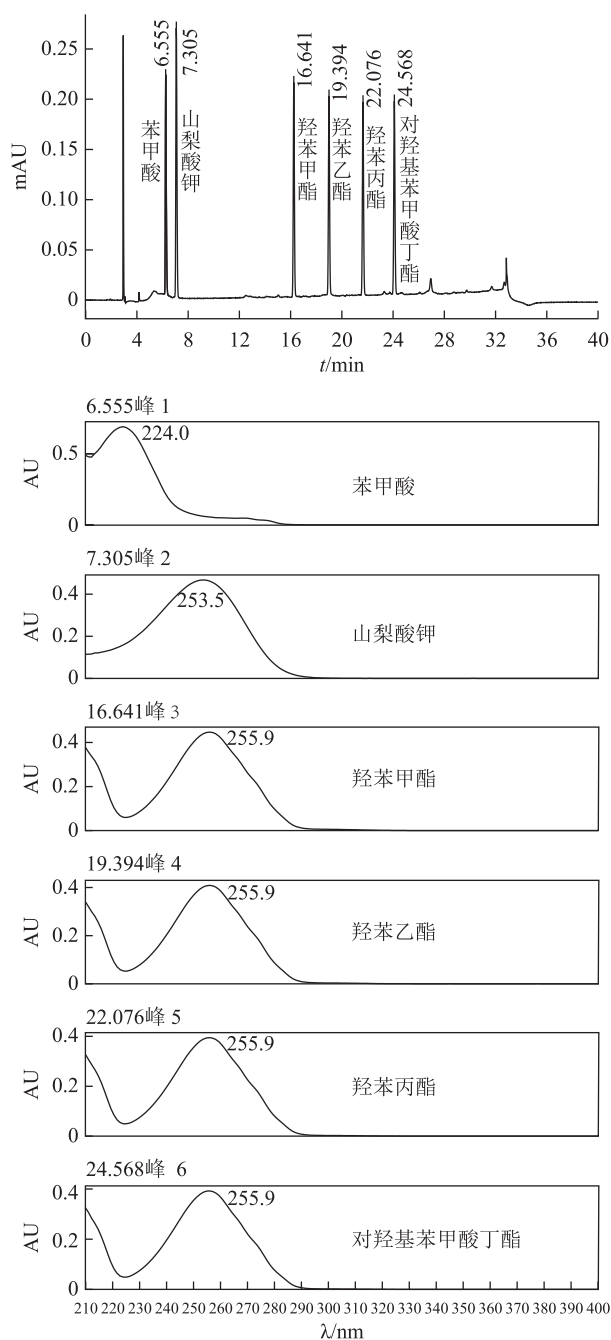


图 1 标准溶液色谱图及光谱图

2.3 专属性实验

阴性供试品溶液的制备：取自制阴性样品，按供试品溶液的制备方法制备，即得。

结果：阴性样品色谱中检出与苯甲酸对照品、山梨酸钾对照品保留时间相近的色谱峰，但其紫外光谱不一致(见图2)。

故本法可用于苯甲酸、山梨酸钾、羟苯甲酯、羟苯乙酯、羟苯丙酯、对羟基苯甲酸丁酯6种防腐剂的检查。

2.4 检出限的确定

采用阳性供试品溶液，逐步稀释后进样，目前较为通行的是目视法来确认，即色谱峰高约为保留时间附近一段基线波动范围的2~3倍时，认为此时的进样量为在此方法下该物质的最小检出限。同上述方法逐步稀释后进样，确认检测的6种物质的检出限(见表1)。

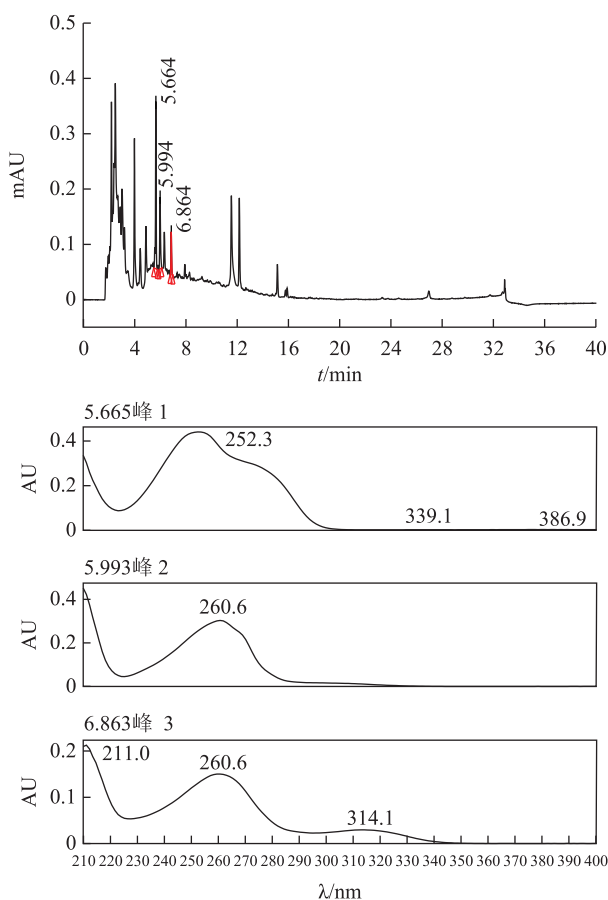


图2 阴性供试品色谱图及光谱图

表1 六种物质检出限

对照品名称	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	对照品名称	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
苯甲酸	1.8	山梨酸钾	0.43
羟苯甲酯	0.84	羟苯乙酯	0.85
羟苯丙酯	0.91	对羟基苯甲酸丁酯	1.0

2.5 样品筛查

依法对7个企业的31批次样品进行筛查，结果均未检出与除苯甲酸以外5种对照品保留时间及紫外光谱图均相一致的非法添加物(见图3)；31批次样品中苯甲酸含量结果，均符合规定(见表2)。《中华人民共和国药典》2015年版四部中规定了合剂中根据需要可加入适宜的附加剂，并且规定了苯甲酸的用量不得超过0.3%，(其钾盐、钠盐的用量分别按酸计)。合剂系指饮片用水或其他溶剂，采用适宜的方法提取制成的口服液体制剂(单剂量灌装者也可称“口服液”)[4]。

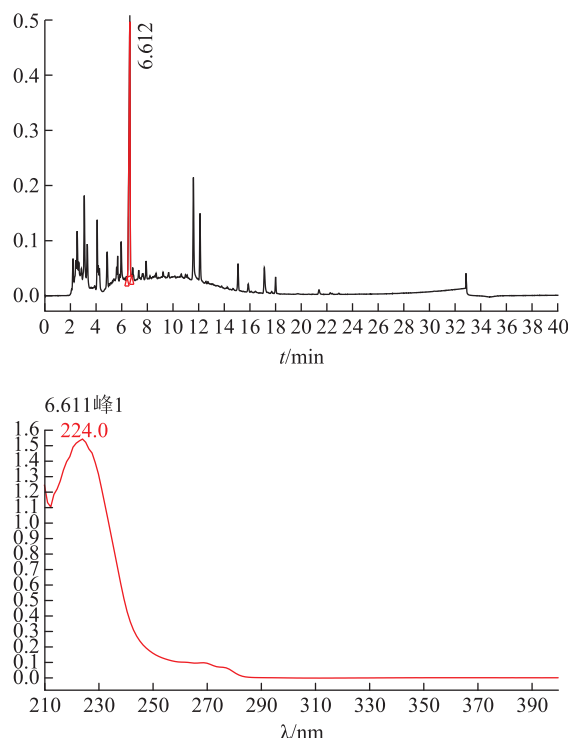


图3 供试品溶液色谱图及光谱图

所建立的方法阴性无干扰，专属性、耐用性及检出灵敏度均好，可用于消栓口服液中非法添加防腐剂物质的检查[5]。

苯甲酸对照品进样量为10 μL ，含量为88.711 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表2 31批次样品中苯甲酸含量

检品编号	进样量/ μL	峰面积	含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$
CY20181174	10	3 113 198	2.4
CY20181623	10	2 928 450	2.2
CY20181036	10	2 681 366	2.0
CY20181031	10	2 844 645	2.2
CY20181575	10	3 057 640	2.3
CY20181533	10	3 231 843	2.5
CY20181809	10	2 618 342	2.0
CY20181811	10	2 654 924	2.0
CY20180947	10	3 253 512	2.5
CY20181538	10	2 828 918	2.2
CY20181541	10	3 306 982	2.5
CY20181543	10	3 078 801	2.4
CY20181531	10	3 473 756	2.7
CY20181038	10	2 787 591	2.1
CY20181535	10	3 387 836	2.6
CY20181034	10	3 503 324	2.7
CY20180581	10	3 318 329	2.6
CY20182129	10	3 278 405	2.5
CY20180572	10	3 224 929	2.5
CY20180272	10	3 188 236	2.5
CY20182364	10	3 001 549	2.3
CY20182302	10	1 803 923	1.4
CY20182636	10	1 475 717	1.1
CY20182968	10	3 309 185	2.6
CY20182467	10	2 550 301	2.0
CY20182192	10	3 003 602	2.3
CY20181089	10	1 678 220	1.3
CY20182203	10	1 984 059	1.5
CY20180283	10	2 723 837	2.1
CY20182130	10	3 309 692	2.6
CY20181039	10	2 751 368	2.1

3 讨论

本文建立了一种同时测定中药口服液体剂中6种防腐剂的高效液相色谱法,可为中药口服液体剂中防腐剂的质量控制提供依据。

本实验在进行阴性样品制备时,处方中桃仁属于种子类中药,因为有些种子类中药存放时间长也有可能分解出苯甲酸成分,但是即使有苯甲酸成分,实验测出来的量也比标准规定低很多,可以忽略为没有干扰。同时,要求选购阴性药材时,注意各药味的质量必须符合国家标准。

参考文献

- [1] 曾波,陈睿彦,李艳,等.气相色谱法同时测定中药口服液体剂中的丙酸山梨酸苯甲酸[J].中国现代中药,2017,19(3):439-441,445.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:1420.
- [3] 顾维民,张新宏,曹宝帅.小儿清肺化痰口服液的质量分析及评价[J].中国现代中药,2018,20(1):98-100.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:26.
- [5] 范建伟,刘武占,李艳芳,等.小儿消积止咳口服液的气相色谱指纹图谱研究[J].中国现代中药,2017,19(6):858-862.

(收稿日期:2018-11-06 编辑:姚霞)