HPLC 同时测定苏菲咳糖浆中的 4 种成分

伍 蓉[1],朱泽兵[1],赵培静[2],黄小兰[1],肖 琦[1*],肖跃华[1]
(1.重庆市万州食品药品检验所 三峡库区道地药材开发利用重庆市重点实验室,重庆 万州 404000;2.广东省华微检测股份有限公司,广东 广州 510000)

摘要:目的 采用 HPLC 同时测定苏菲咳糖浆中盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸的含量。**方法** 采用 Diamonsil C_{18}色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈-0.2%磷酸,梯度洗脱,流速 1.0 mL·min^{-1},柱温 35 ℃,进样量 10 μL,测定波长分别为 210 nm(盐酸麻黄碱 0~15 min)、237 nm(甘草苷 15.1~24.5、甘草酸 40.1~58 min)、230 nm(苯甲酸钠 24.6~40 min)。**结果** 盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸的线性范围分别为 0.13~1.53、0.014~0.17、1.41~16.93、0.13~1.54 μg·mL^{-1},平均回收率分别为 99.86%、98.91%、98.81%、98.49%,*RSD* 分别为 1.63%、0.86%、0.87%、0.57%。**结论** 所用方法简便可靠、重复性好,可用于苏菲咳糖浆的质量控制。

关键词: 苏菲咳糖浆;盐酸麻黄碱;甘草苷;苯甲酸钠;甘草酸;高效液相色谱法;波长变换;同时测定
中图分类号:R917 **文献标志码:**A **文章编号:**1006-0103(2023)03-0319-04
DOI:10.13375/j.cnki.wcjps.2023.03.018

Simultaneous determination of four components in Sufeike syrup by HPLC

WU Rong[1],ZHU Zebing[1],ZHAO Peijing[2],HUANG Xiaolan[1],XIAO Qi[1*],XIAO Yuehua[1]
(1. *Key Laboratory of Development and Utilization of Genuine Medicinal Materials in Three Gorges Reservoir Area,Wanzhou Institute for Food and Durg Control,Wanzhou,Chongqing*,404000 *P. R. China*;2. *Guangdong Huawei Testing Co.,Ltd.,Guangzhou,Guangdong*,510000 *P. R. China*)

Abstract: OBJECTIVE To simultaneously detect ephedrine hydrochloride,glycyrrhizin,sodium benzoate and glycyrrhizic acid in Sufeike syrup by HPLC. **METHODS** The analysis was performed on a Diamonsil C_{18} column(250 mm×4.6 mm,5 μm),which was used with a mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid by gradient elutionat at flow rate of 1.0 mL·min^{-1}. The column temperature was set at 35 ℃,and the detection wavelength was set at 210 nm for ephedrine hydrochloride,230 nm for sodium benzoate,and 237 nm for glycyrrhizin and glycyrrhizic acid. **RESULTS** A good linearity of ephedrine hydrochloride,glycyrrhizin,sodium benzoate and glycyrrhizic acid was achieved in the range of 0.13-1.53,0.014-0.17,1.41-16.93 and 0.13-1.54 μg·mL^{-1},respectively. The average recoveries of the five components were 99.86%,98.91%,98.81% and 98.49%,while their *RSD*s are 1.63%,0.86%,0.87% and 0.57%,respectively. **CONLUSION** This simple,reliable and reproducible method can be used for the quality control of Sufeike syrup.

Key words: Sufeike syrup; Ephedrine hydrochloride; Glycyrrhizin; Sodium benzoate; Glycyrrhizic acid; HPLC; Wavelength conversion; Simultaneous determination
CLC number: R917 **Document code:**A **Article ID:** 1006-0103(2023)03-0319-04

苏菲咳糖浆收载于国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS3-B-2521-97、国家药品监督管理局国家药品标准(试行)颁布件 WS-11428(ZD-1428)-2002 中,是由盐酸麻黄碱、百部流浸膏、甘草流浸膏、氯化铵、桔梗流浸膏、薄荷脑、桑白皮流浸膏等 7 味药组成的复方制剂,另加苯甲酸钠作为糖浆的防腐剂。具有镇咳祛痰的功效,用于治疗咳嗽、哮喘、多痰,支气管炎等。其中,盐酸麻黄碱为拟肾上腺素,可舒张支气管平滑肌,缓解哮喘症状;甘草浸膏具有祛痰、止咳、平喘的作用;桔梗具有宣肺、利咽、祛痰、排脓的功效;桑白皮具有泻肺平喘、利水消肿的作用。苯甲酸钠又名安息香酸钠,主要作为抑菌防腐剂,是一种使用时间长,使用范围广的广

基金项目:重庆市药品监督管理局 2021 年度药品科研项目(渝药监[2021]30 号)
作者简介:伍蓉(1975—),女,副主任药师,从事食品和药品质量分析的工作。Email:wr55555@163.com
*通信作者(Correspondent author),Email:1600818606@qq.com

谱抗菌剂。其质量标准中仅有氯化铵的含量滴定测定、甘草酸铵的薄层色谱鉴别、盐酸麻黄碱和甘草酸的含量测定[1]。苯甲酸钠具有致突变的作用,是染色体的断裂剂,故有必要对苯甲酸钠的含量进行检测[2]。尚未见同时对方中盐酸麻黄碱、甘草流浸膏中甘草酸、甘草苷、苯甲酸钠含量测定的报道。现采用 HPLC 法,紫外波长变换同时测定处方中盐酸麻黄碱,甘草流浸膏的活性成分甘草苷、甘草酸,防腐剂苯甲酸钠含量,为提高质量标准提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试药

1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦)。盐酸麻黄碱、甘草苷、甘草酸铵对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为:171241 - 201007、111610 - 201908、110731 - 20202,含量分别为 100%、95.0%、96.2%);苯甲酸钠对照品(坛墨质检科技股份有限公司,含量 99.0%);苏菲咳糖浆(太极集团西南药业股份有限公司,批号分别为 2019007、2019012、2021004);阴性用桑白皮药材、甘草药材、桔梗药材、百部药材(为本所标本室提供,经朱泽兵鉴定,均符合 2020 年版《中国药典》中的规定);乙腈为色谱纯;水为超纯水;其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 *溶液的制备* 精密称取 10.23 mg 盐酸麻黄碱对照品,置 100 mL 量瓶中,加 0.05 moL·L^{-1} 盐酸定容,得 102.30 μg·mL^{-1} 盐酸麻黄碱对照品溶液;精密称取 11.75 mg 甘草苷对照品,置 50 mL 量瓶中,加 70% 乙醇定容,得 223.25 μg·mL^{-1} 甘草苷对照品溶液,精密吸取 1.00 mL 该溶液,置 20 mL 量瓶中,加 70% 乙醇定容,即得 11.16 μg·mL^{-1} 甘草苷对照品溶液;精密称取 114.00 mg 苯甲酸钠对照品,置 100 mL 量瓶中,加 10% 甲醇定容,得 1.1286 mg·mL^{-1} 苯甲酸钠对照品溶液;精密称取 10.65 mg 甘草酸铵对照品,置20 mL量瓶中,加 70% 乙醇定容,即得 512.26 μg·mL^{-1} 甘草酸铵对照品溶液,精密吸取 2 mL 该溶液,置 10 mL 量瓶中,加 70% 乙醇定容,即得 102.45 μg·mL^{-1} 甘草酸铵对照品溶液;分别精密吸取盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸等对照品溶液各 2.50 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,即得含盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸铵对照品分别为 25.58、2.79、282.15、25.61 μg·mL^{-1} 的混合对照品溶液;分别精密吸取混合对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、5.0、6.0 mL,置 100 mL 量瓶中,分别加甲醇定容,得混合对照品系列标准曲线溶液;取1 mL样品,置 500 mL 量瓶中,加甲醇定容,滤过,即得供试品溶液。按 2020 年版《中国药典》中的方法制得甘草流浸膏、桔梗流浸膏、百部流浸膏,再按处方工艺分别制备缺盐酸麻黄碱、甘草流浸膏、苯甲酸钠的阴性样品,同供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。

1.2.2 *色谱条件和专属性的考察*[1,3-7] 采用 Diamonsil C_{18} 色谱柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm),流动相为 0.2% 磷酸(A) - 乙腈(B),梯度洗脱(0 ~ 8 min、8% B,8 ~ 20 min、8% ~ 20% B,20 ~ 40 min、20% ~ 35% B,40 ~ 50 min、35% ~ 55% B,50 ~ 52 min、55% ~ 80% B,52 ~ 53 min、80% ~ 8% B,53 ~ 58 min、8% B),流速 1.0 mL·min^{-1},柱温 35 ℃,检测波长为 210 nm(盐酸麻黄碱 0 ~ 15 min)、237 nm(甘草苷 15.1 ~ 24.5 min、甘草酸 40.1 ~ 58 min)、230 nm(苯甲酸钠 24.6 ~ 40 min),进样量 10 μL。

1.2.3 *线性关系的考察* 分别精密吸取 10 μL 混合对照品的系列标准曲线溶液,按“1.2.2”项色谱条件,进样,测定,以峰面积积分值为纵坐标、进样量为横坐标(μg),进行线性回归,4 种成分的进样量在相应范围内与峰面积的线性关系良好(表 1)。

表 1 4 种成分的线性关系表(n = 6)

Table 1 Linear relation of four components(n = 6)

成分	回归方程	线性范围/μg·mL^{-1}	r
盐酸麻黄碱	Y = 778.04X + 101.81	0.13 - 1.53	0.9993
甘草苷	Y = 50.68X + 9.4483	0.014 - 0.17	0.9999
苯甲酸钠	Y = 208.92X + 20.784	1.41 - 16.93	0.9999
甘草酸	Y = 1.1903 × 10^3X - 3.4658	0.13 - 1.54	0.9999

1.2.4　加样回收的试验　精密量取 0.50 mL 已知含量的样品(批号:2019007)6 份,每份中分别加入 10 mL 混合对照品浓度,按“1.2.1”“1.2.2”项方法处理并测定,计算回收率(表 2)。

表 2　加样回收率的试验结果(mg,n =6)

Table 2　Results of the recovery tests(mg,n =6)

对照品	样品含量	加入量	测得量	回收率/%	$\bar{X}$/%	*RSD*/%
盐酸麻黄碱	0.2503	0.2558	0.5121	100.11	99.86	1.63
	0.2503	0.2558	0.4968	98.76		
	0.2503	0.2558	0.5101	100.83		
	0.2503	0.2558	0.5153	101.20		
	0.2503	0.2558	0.4969	98.18		
	0.2503	0.2558	0.5005	99.89		
甘草苷	0.0232	0.0279	0.0503	98.85	98.91	0.86
	0.0232	0.0279	0.0505	99.35		
	0.0232	0.0279	0.0450	98.81		
	0.0232	0.0279	0.0504	98.19		
	0.0232	0.0279	0.0506	100.12		
	0.0232	0.0279	0.0513	100.27		
苯甲酸钠	2.2244	2.8215	5.0131	99.71	98.81	0.87
	2.2244	2.8215	5.0419	99.48		
	2.2244	2.8215	5.0071	99.61		
	2.2244	2.8215	4.9526	98.92		
	2.2244	2.8215	4.9768	97.68		
	2.2244	2.8215	4.9238	97.91		
甘草酸	0.2126	0.2561	0.4647	98.12	98.49	0.57
	0.2126	0.2561	0.4607	98.27		
	0.2126	0.2561	0.4611	97.71		
	0.2126	0.2561	0.4600	98.63		
	0.2126	0.2561	0.4647	98.15		
	0.2126	0.2561	0.4583	97.63		

1.2.5　精密度、稳定性与重复性的试验　精密吸取 10 μL 混合对照品溶液,连续进样 6 次。计算得盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸峰面积的 *RSD* 分别为 1.58%、0.99%、1.38%、0.96%,表明仪器精密度良好。取供试品(批号:2019007)溶液,分别在 0、4、8、24、28、32 h 时进样 1 次。计算得盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸峰面积的 *RSD* 分别为 1.08%、1.26%、1.36%、1.95%,表明供试品溶液在 32 h内稳定。取同批样品(批号:2019007)6 份,各 2 mL,按样品溶液制备方法操作,测定盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸的峰面积。计算得 4 种化合物峰面积的 *RSD* 分别为 1.88%、1.41%、1.78%、0.99%,表明方法的重复性良好。

1.2.6　样品的含量测定　取 3 批样品(批号:2019007、2019012、2021004)测定含量,计算得供试品中盐酸麻黄碱的含量分别为 500.59、499.58、498.88 μg·mL^{-1}、甘草苷的含量分别为 46.33、46.12、45.78 μg·mL^{-1}、苯甲酸钠的含量分别为 4.4488、4.2986、4.3058 mg·mL^{-1},甘草酸的含量分别为 425.12、424.66、424.95 μg·mL^{-1}。

1.2.7　专属性的试验　分别精密吸取混合对照品、供试品和阴性样品溶液各 10 μL,按“1.2.2”项色谱条件测定,阴性样品溶液无干扰,结果见图 1,表明方法的专属性良好。

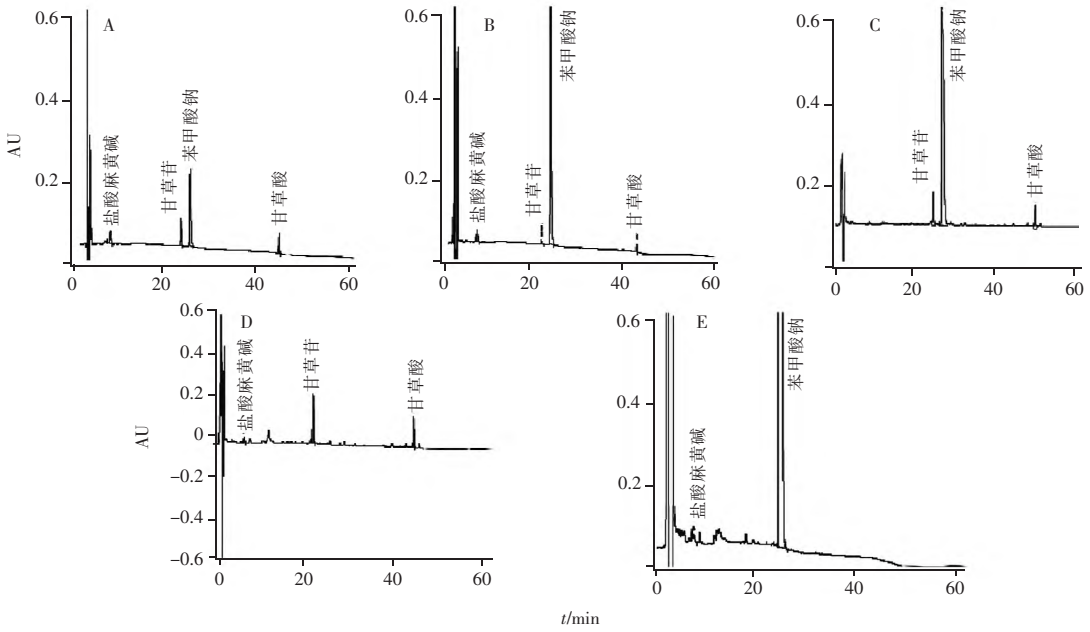

图1 混合对照品(A)、样品(B)、缺盐酸麻黄碱阴性样品(C)、缺苯甲酸钠阴性样品(D)、甘草阴性样品(E)溶液的色谱图

Figure 1 Chromatogram of mixed control solution (A), sample solution (B), negative sample solution without ephedrine hydrochloride (C), negative sample solution without sodium benzoate (D), *Glycyrrhizae Radix* and *Rhizoma* negative sample solution (E)

2 讨论

苯甲酸钠的测定方法有分光光度法、离子排斥色谱法、薄层色谱法、非水滴定法、高效毛细管电泳法、气象色谱-质谱法、加压毛细管电色谱法、荧光光谱标准加入法、胶束电动色谱法、高效液相法、气相色谱法等,选择了较为常用的高效液相色谱法对其测定[2]。桔梗中活性成分桔梗皂苷D无共轭结构,无强的发色基团,紫外吸收较弱,考察不同浓度的桔梗皂苷D测定,需要在较高浓度下紫外吸收才较明显,故桔梗皂苷D更适合采用蒸发光散射检测器测定[7]。现对处方中的盐酸麻黄碱、甘草流浸膏的活性成分甘草苷和甘草酸、防腐剂苯甲酸钠通过HPLC切换波长法同时测定其含量。结合2020年版《中国药典》、相关标准及文献,优化得到相应的色谱条件,方法容易得到推广应用[1,3-6]。文中方法简便,易操作,重复性好,准确性高,可用于苏菲咳糖浆中盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸的含量测定,可为提高苏菲咳糖浆的质量标准提供参考。

参考文献:

[1] 许敏,刘杨. HPLC测定苏菲咳糖浆中的盐酸麻黄碱[J]. 华西药学杂志,2011,26(1):79-80.

[2] 李菊,刘淑君,黄雪琳. 苯甲酸和苯甲酸钠安全性与检测方法研究进展[J]. 粮食与油脂,2012,25(9):49-51.

[3] 肖琦,阳文武,薛梅. 舒肺糖浆的质量标准研究[J]. 医药前沿,2013,3(12):136-137.

[4] 胡小祥,何艳,曾卫阳. HPLC同时测定伤风停胶囊中的5种成分[J]. 华西药学杂志,2021,36(1):55-58.

[5] 魏长勇,余敏灵. 替代对照品内加入法测定复方甘草片中的甘草苷和甘草酸[J]. 华西药学杂志,2020,35(4):442-446.

[6] 罗艳,涂晓琴,钟庆元,等. HPLC测定12种口服液类保健食品中的6种防腐剂[J]. 华西药学杂志,2015,30(3):331-333.

[7] 颜冬兰,叶惠煊,黄胜,等. HPLC-ELSD法同时测定补血生乳颗粒中8种成分[J]. 中草药,2019,50(20):4957-4961.

收稿日期:2022-03-02