

HPLC同时测定舒肺糖浆中4种成分

肖琦¹, 赵培静², 朱泽兵¹, 黄小兰¹, 张德伟¹, 郭娅¹, 黎昌权^{1*}, 木林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 404000; 2. 广东省华微检测股份有限公司, 广东 广州 510000)

摘要: 目的 建立 HPLC 法同时测定舒肺糖浆中 4 种成分的含量。方法 该药物甲醇稀释液的分析采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.2% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 210、230、237 nm; 柱温 35 ℃。结果 盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸分别在 0.026~0.51 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、0.022~0.45 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、0.056~1.13 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、0.051~1.02 μg/mL ($r=0.999\ 9$) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 99.29%、99.32%、99.55%、98.81%, RSD 分别为 1.55%、1.49%、1.63%、0.86%。结论 该方法简便可靠, 重复性好, 可用于舒肺糖浆的质量控制。

关键词: 舒肺糖浆; 盐酸麻黄碱; 甘草苷; 苯甲酸钠; 甘草酸; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)05-1622-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.039

舒肺糖浆收载于《卫生部药品标准(中药成方制剂)》第十二册^[1], 是由盐酸麻黄碱、氯化铵、甘草流浸膏、苯甲酸钠、百部流浸膏组成的中西药复方制剂, 其中辅料为蔗糖, 苯甲酸钠为防腐剂, 具有镇咳祛痰的功效, 用于治疗急慢性支气管炎, 方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, 但其质量标准^[1]中仅有关于氯化铵鉴别的化学反应和氯化铵含量测定, 未涉及其他成分。文献[2]报道了舒肺糖浆中盐酸麻黄碱含量测定; 文献[3-6]报道, 苯甲酸钠具有致突变的作用, 是染色体的断裂剂, 常规剂量下对秀丽线虫具有一定的生殖毒性和神经毒性, 对大鼠脑组织神经系统有一定的伤害, 对雄性动物具有生殖毒性, 故有必要对其含量进行测定。本实验建立 HPLC 法同时测定舒肺糖浆中盐酸麻黄碱、甘草流浸膏活性成分甘草苷和甘草酸、苯甲酸钠含量, 以期为提高该制剂质量控制标准提供参考。

1 材料

安捷伦 1100 高效液相色谱仪, 配置 VWD 检测器 (美国安捷伦公司); MSE225S 电子分析天平 (十万分之一, 德国赛多利斯公司); AB204S 电子分析天平 (万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司); SDL A-B-1101 纯水机 (重庆圣德利医疗器械研究有限公司)。盐酸麻黄碱 (批号 171241-201007)、甘草苷 (批号 111610-201908, 纯度 95.0%)、甘草酸铵 (批号 110731-20202, 纯度 96.2%) 对照品均购于

中国食品药品检定研究院; 苯甲酸钠对照品 (批号 A2009059, 纯度 99.0%) 购于坛墨质检科技股份有限公司。舒肺糖浆 (太极集团西南药业股份有限公司, 批号分别为 100302、100501、110205)。甘草、桔梗、百部源自重庆市万州食品药品检验所中药室的标本室, 经朱泽兵中药师鉴定为正品, 均符合 2020 年版《中国药典》规定。乙腈为色谱纯; 氯化铵、磷酸为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 参考文献 [1-2, 7-20] 报道, Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.2% 磷酸, 梯度洗脱, 程序见表 1; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 ℃; 检测波长 210 nm (盐酸麻黄碱)、237 nm (甘草酸、甘草苷)、230 nm (苯甲酸钠); 进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 乙腈/%	B 0.2%磷酸/%
0~8	8	92
8~20	8~20	92~80
20~40	20~35	80~65
40~50	35~55	65~45
50~52	55~80	45~20
52~53	80~8	20~92
53~58	8~8	92~92

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 称取盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸对照品适量, 加溶剂 (盐酸麻黄碱加 0.05

收稿日期: 2022-04-17

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: 肖琦 (1978—), 男, 硕士, 副主任药师, 从事食品、药品、保健食品、化妆品检验研究。E-mail: 1600818606@qq.com

* 通信作者: 黎昌权 (1964—), 男, 副主任药师, 研究方向为食品药品检测。E-mail: 605468393@qq.com

moL/L 盐酸, 甘草苷加 70% 乙醇, 苯甲酸钠加 10% 甲醇, 甘草酸铵加 70% 乙醇) 定容, 摇匀, 制成质量浓度分别为 102.30、223.25、1 128.60、512.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的贮备液, 分别精密吸取 2.50、1.00、0.50、1.00 mL 至 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 即得 (各成分质量浓度分别为 25.58、22.33、56.43、51.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。再分别精密吸取 0.10、0.20、0.50、1.00、1.50、2.00 mL 至 100 mL 量瓶中, 甲醇定容, 制成标准曲线溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品 1.00 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

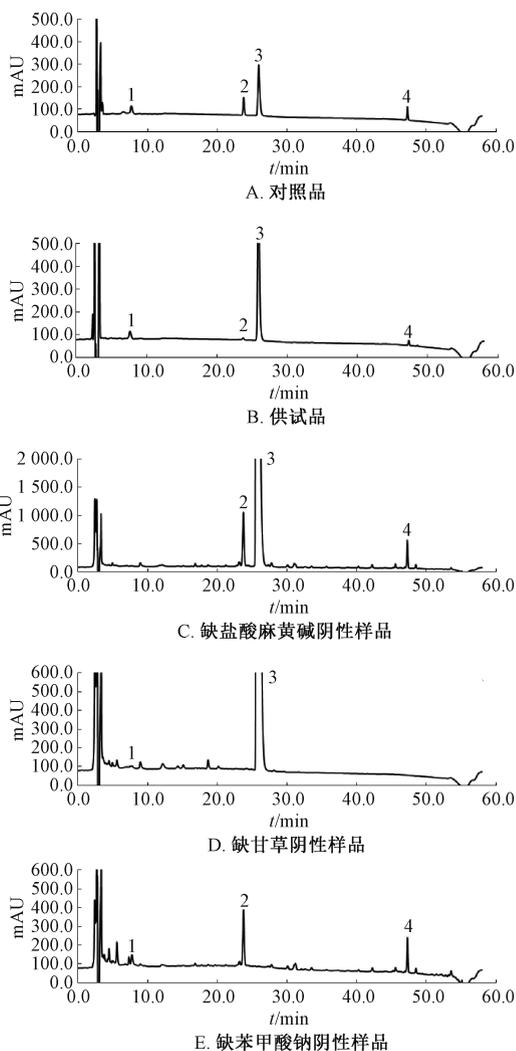
2.2.3 阴性样品溶液 按 2020 年版《中国药典》方法制得甘草、桔梗、百部流浸膏, 根据处方工艺分别制得缺盐酸麻黄碱、缺甘草、缺苯甲酸钠的阴性样品, 按“2.2.2”项下方法制备, 即得。

2.3 专属性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液各 10 μL , 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 1。由此可知, 供试品溶液中各成分在对照品溶液相应位置均有相同保留时间的色谱峰, 阴性无干扰, 表明该方法专属性良好。

2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下标准曲线溶液 10 μL , 在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品峰面积积分为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行回归, 结果见表 2, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 每次 10 μL , 测得盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸铵峰面积 RSD 分别为 1.58%、0.99%、1.38%、0.96%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一份本品 (批号 100302), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 于 0、4、8、24、28、



1. 盐酸麻黄碱 2. 甘草苷 3. 苯甲酸钠 4. 甘草酸

图 1 各成分 HPLC 色谱图

表 2 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
盐酸麻黄碱	$Y=1\ 738.829\ 16X+19.524\ 105$	0.999 2	0.026~0.51
甘草苷	$Y=2\ 504.107X-0.808\ 851$	0.999 9	0.022~0.45
苯甲酸钠	$Y=1\ 151.641\ 12X+1.223\ 087\ 9$	0.999 9	0.056~1.13
甘草酸	$Y=608.691\ 5X+0.193\ 659\ 3$	0.999 9	0.051~1.02

32 h 在“2.1”项色谱条件下各进样测定 6 次, 测得盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸峰面积 RSD 分别为 1.10%、1.84%、1.25%、1.38%, 表明溶液在 32 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一份本品 (批号 100302), 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 测得盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸峰含量 RSD 分别为 1.44%、1.81%、1.41%、1.51%, 表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密量取 0.50 mL 各成分含量已知的本品 (批号 100302) 6 份, 加入盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸铵质量浓度分别为 51.16、5.58、225.72、76.85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液 10 mL, 按“2.2.2”

项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸平均加样回收率分别为 99.29%、99.32%、99.55%、98.81%, RSD 分别为 1.55%、1.49%、1.63%、0.86%。

2.9 样品含量测定 取 3 批样品, 每批 3 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 计算含量, 结果见表 3。

3 讨论

本实验考察了流动相 0.2% 甲酸、0.01 mol/L 磷酸二氢钠溶液、0.2% 磷酸, 发现后两者均具有较好的分离效果, 最终选择 0.2% 磷酸以减少盐溶液对色谱柱、仪器的损害。文献 [18] 报道, 桔梗皂苷 D 也可采用紫外检测器测定,

表 3 各成分含量测定结果 (μg/mL, n=3)

批号	盐酸麻黄碱	甘草苷	苯甲酸钠	甘草酸
100302	984.39	113.62	4 165.96	1 420.29
100501	972.31	115.21	4 078.25	1 435.22
110205	975.46	110.35	4 132.18	1 424.13

故前期曾考虑将该桔梗活性成分与其他成分一起测定,但它无共轭结构和强发色基团,紫外吸收较弱,灵敏度低,需要在较高浓度下球紫外吸收才较明显,故更适合采用蒸发光散射检测器^[19-20]。

4 结论

本实验建立 HPLC 法同时测定舒肺糖浆中盐酸麻黄碱、甘草苷、苯甲酸钠、甘草酸含量,该方法简便可靠,重复性好,可用于该制剂质量控制,从而为其质量标准提高提供参考。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(中药成方制剂第十二册)[S]. 1997: 192.

[2] 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.

[3] 吕娜, 沈明浩. 苯甲酸钠对小鼠骨髓细胞的致突变作用研究[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(4): 466-468.

[4] 金司仪, 张凡, 曹艳. 3种常用防腐剂对秀丽隐杆线虫毒性作用的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 905-909.

[5] 梁川. 苯甲酸钠对大鼠神经系统损伤的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(9): 3810-3814.

[6] 吕娜, 沈明浩. 食品防腐剂苯甲酸钠的蓄积毒性及精子毒性研究[J]. 毒理学杂志, 2011, 25(3): 241-242.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[8] 贾可可, 陈闪闪, 许美娟, 等. HPLC法同时测定四逆散中8种成分[J]. 中成药, 2022, 44(2): 372-375.

[9] 李运, 白贺明, 邱国玉, 等. HPLC法同时测定杏苏止咳糖浆中5种成分[J]. 中成药, 2021, 43(8): 2002-2005.

[10] 何艳, 胡小祥, 汪毅, 等. HPLC法同时测定风寒感冒颗粒中7种成分[J]. 中成药, 2020, 42(9): 2272-2275.

[11] 何艳, 汪毅, 李敏, 等. HPLC法同时测定藿香清胃片、藿香清胃胶囊、藿香清胃颗粒中4种成分[J]. 中成药, 2021, 43(2): 327-331.

[12] 樊宝娟, 黄艳, 罗定强, 等. 高效液相色谱法同时测定解郁安神颗粒中甘草苷及甘草酸含量[J]. 中国药业, 2018, 27(4): 13-15.

[13] 张筱, 隋海山, 李现菊, 等. HPLC-DAD法同时测定复方甘草片中3种有效成分和5种防腐剂[J]. 中成药, 2022, 44(2): 376-380.

[14] 赵准, 季玉林, 吴建明, 等. 高效液相色谱法测定逍遥分散片中甘草苷含量[J]. 中国药业, 2019, 28(3): 31-33.

[15] 陆仕华, 李丹凤, 黄兴振. 高效液相色谱法测定小儿复方麻黄碱桔梗糖浆中盐酸麻黄碱含量[J]. 中国药业, 2016, 25(7): 56-58.

[16] 张云, 于梦, 付丙月, 等. HPLC法测定头孢丙烯干混悬剂中苯甲酸钠的含量[J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(8): 762-765.

[17] 刘建军, 张天虹. HPLC法同时测定对乙酰氨基酚口服溶液中三种辅料的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(7): 663-667.

[18] 李喜凤, 杜云锋, 谢新年, 等. 不同产地桔梗药材 HPLC 指纹图谱及桔梗皂苷 D 含量测定研究[J]. 中成药, 2010, 32(4): 529-532.

[19] 常丽静, 李明月, 韦花花, 等. 升陷汤标准煎液 HPLC-ELSD 特征指纹图谱建立及 3 种成分测定[J]. 中成药, 2021, 43(8): 2010-2016.

[20] 李敏, 聂建军, 魏简汇, 等. HPLC-ELSD法同时测定川贝罗汉止咳颗粒中7种成分[J]. 中成药, 2017, 39(11): 2304-2307.