

# HPLC法测定强力枇杷露中苯甲酸钠的含量<sup>△</sup>

胡卫南\* (衢州市食品药品检验研究院, 浙江衢州 324000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1257-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.32

**摘要** 目的:建立测定强力枇杷露中苯甲酸钠含量的方法,为提高该制剂质量标准提供参考。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Shimadzu VP-ODS C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-0.02% 乙酸铵(15:85, V/V),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 224 nm,柱温为 40 ℃,进样量为 5 μl。使用该方法对 21 家生产企业的 56 批次强力枇杷露中苯甲酸钠的含量进行测定。结果:苯甲酸钠检测质量浓度线性范围为 0.005 24~1.048 00 mg/ml( $r=0.999\ 9$ );精密度、稳定性、重复性试验的 RSD≤1.10%;加样回收率为 98.6%~101.7%,RSD=1.2%( $n=6$ )。56 批次强力枇杷露中苯甲酸钠的含量差异较大,但总体均符合 2015 年版《中国药典》(四部)糖浆剂下要求。结论:该方法操作简单、结果准确、重复性好,可用于强力枇杷露中苯甲酸钠的含量测定。抽样测定结果表明,有必要更新该制剂的含量检测项目,以利于其质量控制。

**关键词** 高效液相色谱法;强力枇杷露;苯甲酸钠;含量测定

## Content Determination of Sodium Benzoate of Qiangli Pipa Syrup by HPLC

HU Weinan(Quzhou Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Quzhou 324000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of sodium benzoate in Qiangli pipa syrup, and provide reference for improving the quality standard of preparation. METHODS: HPLC was performed on the column of Shimadzu VP-ODS C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-0.02% ammonium acetate (15:85, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 224 nm, column temperature was 40 ℃, and the injection volume was 5 μl. The method was used to determine the content of sodium benzoate in 56 batches of Qiangli pipa syrup from 21 manufacturers. RESULTS: The linear range of sodium benzoate was 0.005 24-1.048 00 mg/ml( $r=0.999\ 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 1.10%; recovery was 98.6%-101.7% (RSD=1.2%,  $n=6$ ). It showed big difference in the content of sodium benzoate in the 56 batches of Qiangli pipa syrup, but it generally met the requirements of syrups in Chinese Pharmacopoeia (2015 edition, Vol IV). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate and reliable with good reproducibility, and can be used for the content determination of sodium benzoate in Qiangli pipa syrup. Determination results of sampling show it is necessary to update the formulation content detection projects to strengthen their quality control.

**KEYWORDS** HPLC; Qiangli pipa syrup; Sodium benzoate; Content determination

强力枇杷露收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第二册(以下简称《成方制剂》),为糖浆剂,由枇杷叶、罂粟壳、百部等 7 味药材组成,辅料为蔗糖、苯甲酸钠。该药为临床上治疗久咳劳嗽、支气管炎的常用药<sup>[1]</sup>。从杭州地区 2010—2012 年化痰止咳平喘类中成药相关数据可见,强力枇杷露用药频度、销售金额均居前 2 位<sup>[2]</sup>。处方中苯甲酸钠是常用的化学防腐剂,但是随着其广泛应用,毒副作用也日渐突出,比如致癌性、细胞毒性<sup>[3]</sup>,精子畸形及轻度的蓄积作用<sup>[4]</sup>。高效液相色谱(HPLC)法为近年来测定苯甲酸钠的常见方法,但目前尚未有强力枇杷露中苯甲酸钠含量测定的标准,也未见相关报道。为加强该制剂使用的安全性,笔者查阅相关文献<sup>[5]</sup>,建立了 HPLC 法测定强力枇杷露中苯甲酸钠含量的方法,并对 21 家生产企业的 56 批次样品进行了测定。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

2010 AHT 型 HPLC 仪,包括紫外检测器、Lcsolution 色谱工作站(日本 Shimadzu 公司);UV-2700 型紫外分光光度计(日本 Shimadzu 公司);XP205 型十万分之一电子天平(瑞士 Mettler-Toledor 公司)。

#### 1.2 药品与试剂

<sup>△</sup> 基金项目:衢州市市级重点实验室建设项目

\* 主管药师。研究方向:药物检验。电话:0570-8358021。

E-mail:595431914@qq.com

强力枇杷露共 56 批次,来自市售 21 家厂家;苯甲酸钠对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100433-200301,纯度:100%);甲醇为色谱纯,乙酸铵为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Shimadzu VP-ODS C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.02% 乙酸铵(15:85, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:224 nm;柱温:40 ℃;进样量:5 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取苯甲酸钠对照品 26.30 mg,置于 100 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 10 ml,置于 50 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 精密量取样品 1 ml,置于 50 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方中各药材的比例制备缺苯甲酸钠的阴性对照样品,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

### 2.3 系统适用性试验

分别精密吸取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 1。由图 1 可知,在该色谱条件下,苯甲酸钠峰与其他峰均能达到基线分离,分离度>12.6,理论板数以苯甲酸钠峰计为 4 236,保留时间为 4.382 min,其他成分对测定无干扰。

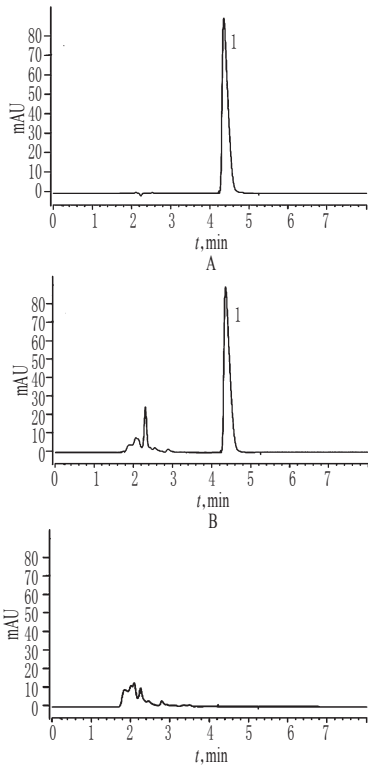


图1 高效液相色谱图

A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.阴性对照溶液;1.苯甲酸钠

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance solution; B.test sample solution; C.negative control solution; 1.sodium benzoate

## 2.4 线性关系考察

精密称取苯甲酸钠对照品 52.40 mg,置于 50 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为 I 号标准溶液;精密吸取 I 号标准溶液 5 ml,置于 50 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为 II 号标准溶液。精密吸取 I 号标准溶液 5、5、5、3、3、5 ml, II 号标准溶液 5、5、5 ml,分别置于 100、50、25、10、5、5、100、50、20 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为 0.052 40、0.104 80、0.209 60、0.314 40、0.628 80、1.048 00、0.005 24、0.010 48、0.026 20 mg/ml 的系列对照品溶液。按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以质量浓度(x, mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为  $y = 3\ 368\ 386.957x + 2\ 013.863\ 925$  ( $r = 0.999\ 9$ )。结果表明,苯甲酸钠检测质量浓度线性范围为 0.005 24~1.048 00 mg/ml。

## 2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,苯甲酸钠峰面积的 RSD=0.83% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

## 2.6 稳定性试验

精密吸取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20140304)适量,分别于室温(25 ℃)密闭放置 0、8、16、24、36 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,苯甲酸钠峰面积的 RSD=0.30% ( $n=5$ ),表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

## 2.7 重复性试验

取样品(批号:20140304)适量,按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液,共 6 份,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,苯甲酸钠的平均含量为 2.499 0 mg/ml, RSD=1.10% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号:20140304)1 ml,共 6 份,分别加入苯甲酸钠对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
2.499 0	2.419 0	4.934 3	100.7		
2.499 0	2.419 0	4.958 1	101.7		
2.499 0	2.419 0	4.907 2	99.6	99.8	1.2
2.499 0	2.419 0	4.906 6	99.5		
2.499 0	2.419 0	4.891 3	98.9		
2.499 0	2.419 0	4.883 1	98.6		

## 2.9 样品含量测定

取 56 批次强力枇杷露样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算样品含量,结果见表 2;样品含量柱状图见图 2。

表 2 样品含量测定结果( $n=3$ ,%)

厂家	批次	最小值	最大值	平均值	标准差
1	1	0.188 4	0.188 4	0.188 4	
2	2	0.190 1	0.191 5	0.190 8	0.001 0
3	1	0.208 5	0.208 5	0.208 5	
4	3	0.185 5	0.187 2	0.186 6	0.001 0
5	2	0.233 2	0.355 1	0.294 2	0.086 2
6	17	0.157 3	0.241 6	0.172 6	0.019 2
7	2	0.166 4	0.180 9	0.173 6	0.010 3
8	1	0.242 8	0.242 8	0.242 8	
9	1	0.186 6	0.186 6	0.186 6	
10	5	0.184 0	0.191 9	0.187 2	0.003 3
11	1	0.197 1	0.197 1	0.197 1	
12	1	0.282 0	0.282 0	0.282 0	
13	1	0.222 4	0.222 4	0.222 4	
14	1	0.145 4	0.145 4	0.145 4	
15	2	0.177 2	0.180 7	0.179 0	0.002 5
16	2	0.174 4	0.176 1	0.175 2	0.001 2
17	3	0.146 3	0.187 2	0.164 1	0.020 9
18	1	0.151 3	0.151 3	0.151 3	
19	2	0.197 4	0.201 8	0.199 6	0.003 1
20	1	0.211 1	0.211 1	0.211 1	
21	6	0.172 8	0.184 3	0.178 7	0.003 8

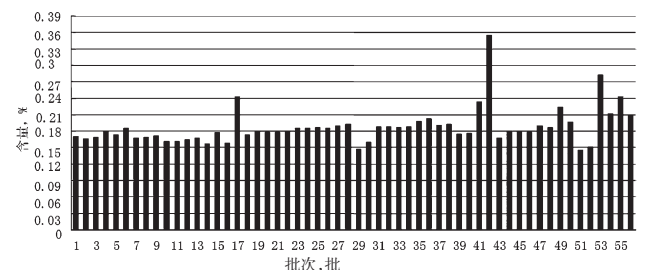


图 2 56 批样品含量柱状图

Fig 2 Histograms of contents of 56 batches of samples

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的确定

笔者将苯甲酸钠对照品溶液用紫外检测器进行全波长检测,结果苯甲酸钠在 224 nm 波长处有最大吸收,且在此波长处干扰组分测定无干扰,因此选择 224 nm 作为检测波长。

### 3.2 流动相的选择

# HPLC法测定黄芩免煎颗粒和饮片中黄芩苷的含量<sup>Δ</sup>

彭其胜\*, 穆瑶, 陈欢(重庆市涪陵中心医院, 重庆 408000)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1259-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.33

**摘要** 目的:比较黄芩免煎颗粒和饮片中有效成分黄芩苷的含量差异。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters C<sub>18</sub>, 流动相为甲醇-0.3%醋酸(47:53, V/V), 流速为 0.8 ml/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 20 μl。结果:黄芩苷检测质量浓度线性范围为 10~100 μg/ml( $r=0.9999$ ); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<3%; 加样回收率为 95.48%~98.98% (RSD=1.26%,  $n=6$ , 饮片)、95.76%~100.50% (RSD=1.75%,  $n=6$ , 颗粒)。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好, 可用于黄芩免煎颗粒和饮片中黄芩苷含量的测定; 各批次黄芩免煎颗粒与饮片中黄芩苷的含量无明显差异。

**关键词** 高效液相色谱法; 黄芩; 有效成分; 含量测定

## Content Determination of Flavonoids in *Scutellaria baicalensis* Granule Preparation and Its Decoction Piece by HPLC

PENG Qisheng, MU Yao, CHEN Huan(Fuling Central Hospital of Chongqing City, Chongqing 408000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To compare the different of contents of the active ingredient baicalin in *Scutellaria baicalensis* granule preparation and decoction piece. METHODS: HPLC was performed on the column of Waters C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-0.3% acetic acid (47:53, V/V) at a flow rate of 0.8 ml/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 25 ℃, and the injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of baicalin was 10-100 μg/ml ( $r=0.9999$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 95.48%-98.98% (RSD=1.26%,  $n=6$ , decoction piece) and 95.76%-100.50% (RSD=1.75%,  $n=6$ , granule). CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible, and can be used for the content determination of baicalin in *S. baicalensis* granule preparation and decoction piece. There is no discernible differences between each kind of *S. baicalensis* granule preparation and decoction piece.

**KEYWORDS** HPLC; *Scutellaria baicalensis*; Active ingredient; Content determination

参考相关文献<sup>[1]</sup>中所用流动相, 本研究选择了甲醇-0.02%乙酸铵(5:95, V/V)为流动相。结果, 用该流动相进行测定, 各峰均能达到基线分离。为加快出峰时间, 减少试剂的消耗量, 节约检测时间, 笔者尝试将甲醇比例调至 15%, 也能达到良好的分离效果。因此, 选择甲醇-0.02%乙酸铵(15:85, V/V)为本研究的流动相。

### 3.3 样品含量测定结果分析

对 21 家生产企业 56 批次样品中苯甲酸钠含量进行测定, 结果表明, 同一厂家不同批次的样品含量测定结果差异较小(除厂家 5 外), 但不同厂家样品含量测定结果差异较大, 最低含量为 0.145 4% (按苯甲酸计为 0.123 2%), 最高含量为 0.355 1% (按苯甲酸计为 0.300 8%), 两者相差约 2.4 倍。

2015 年版《中国药典》(四部)糖浆剂项下规定, 苯甲酸的用量不得超过 0.3% (其钾盐、钠盐的含量分别按酸计), 则 56 批次样品均符合规定。若按《成方制剂》制法项下“苯甲酸钠加入量为 2.5 g/1 000 ml”计, 参照 2015 年版《中国药典》(一部)规定“取用量不得超过规定量的 ±10%”, 得苯甲酸钠的加入量应在 0.225%~0.275% 范围内, 则只有 3 批(厂家 5, 批次 1, 样品含量为 0.232 9%~0.233 5%; 厂家 6, 批次 16, 样品含量为 0.241 2%~0.241 9%; 厂家 8, 批次 1, 样品含量为 0.242 8%~0.242 8%)符合规定, 其余样品除 2 批(厂家 5, 批次 2, 样品含量为 0.354 9%~0.355 3%; 厂家 12, 批次 1, 样品含量为 0.282 0%~

0.282 0%)高于此限度外, 剩余 51 批次均低于此限度。这可能与厂家生产工艺或者苯甲酸钠加入量控制不严有关。

虽然不同厂家苯甲酸钠用量差异较大, 但从微生物实验和性状观察结果来看, 各批次样品均未发生酸败、霉变等现象, 建议进一步开展苯甲酸钠用量试验, 以减少用量或者将处方中的苯甲酸钠改为更安全的防腐剂, 减少防腐剂摄入过多带来的危害。从发展趋势上看, 以生物发酵而成的生物防腐剂将成为未来的发展趋势。

综上所述, 本方法操作简单、结果准确、重复性好, 可用于强力枇杷露中苯甲酸钠的含量测定。抽样测定结果表明, 有必要更新该制剂的含量检测项目, 以利于其质量控制。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂: 第二册[S]. 1990: 272.
- [2] 施政, 王建平. 杭州地区 26 家医疗卫生机构 2010—2012 年化痰止咳平喘类中成药基本药物使用分析[J]. 中国药房, 2014, 25(20): 1 882.
- [3] 王思文, 巩江, 高昂, 等. 防腐剂苯甲酸钠的药理及毒理学研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(30): 16 724.
- [4] 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.
- [5] 黄文静, 湛文青, 洪建文, 等. 高效液相色谱法测定美敏伪麻口服溶液中苯甲酸钠的含量[J]. 中南药学, 2014, 12(7): 690

Δ 基金项目: 重庆市涪陵区第二批应用技术与开发资金项目 (No.FLKJ 2014ABB2107)

\* 主任药师。研究方向: 药事管理、医院药剂。电话: 023-72220811。E-mail: 397506631@qq.com

(收稿日期: 2015-03-15 修回日期: 2016-01-11)  
(编辑: 刘柳)