

引用本文:王云霞,张苗苗,谢志民.变换波长高效液相色谱法测定茵栀黄口服液中防腐剂的含量[J].安徽医药, 2022, 26(5): 877-881. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.007.



◇ 药物分析 ◇

变换波长高效液相色谱法测定茵栀黄口服液中防腐剂的含量

王云霞,张苗苗,谢志民

作者单位:西安市食品药品检验所,陕西 西安 710054

摘要: 目的 建立测定茵栀黄口服液中防腐剂的含量测定方法,并评价该制剂在防腐剂方面的安全性。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法。色谱柱为Agilent C₁₈;流动相为甲醇-0.02 mol/L磷酸二氢钠溶液(用磷酸调pH值3.7)(V/V),梯度洗脱;流速为1.0 mL/min;柱温为30℃;紫外检测器;苯甲酸以228 nm为检测波长,山梨酸和对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯以255 nm为检测波长。结果 苯甲酸、山梨酸、对羟基苯甲酸甲酯(羟苯甲酯)、对羟基苯甲酸乙酯(羟苯乙酯)、对羟基苯甲酸丙酯(羟苯丙酯)、对羟基苯甲酸丁酯(羟苯丁酯)分别在进样量为77.11~4 935 ng($r=0.999\ 9$)、100.00~6 437 ng($r=0.999\ 9$)、13.00~814 ng($r=0.999\ 9$)、70.00~4 524 ng($r=0.999\ 9$)、12.00~794 ng($r=0.999\ 9$)、13.00~823 ng($r=0.999\ 9$),峰面积积分值与进样量呈良好的线性关系;精密度($n=6$)、重复性($n=6$)、稳定性(24 h, $n=8$)试验的RSD均小于1.0%;最低方法检出限分别为0.600 ng、0.015 ng、0.025 ng、0.090 ng、0.010 ng、0.022 ng;最低方法定量限分别定为2.40 ng、0.14 ng、0.33 ng、0.27 ng、0.04 ng、0.08 ng;加样回收率分别为100.69%、98.44%、101.21%、104.18%、103.95%、103.55%,RSD分别为0.24%、0.29%、0.72%、0.71%、0.44%、0.34%($n=6$)。在32批样品中均未检测出除苯甲酸以外的其他防腐剂。结论 该方法可用于茵栀黄口服液中防腐剂的定量分析;虽在抽检样品中未检测出其他防腐剂,为了提高其安全性,建议增订防腐剂检查项。**关键词:** 防腐剂,药物; 苯甲酸; 茵栀黄口服液; 色谱法,高效液相

Simultaneous determination of preservatives in *Yinzhihuang* oral liquid by HPLC with variable wavelength

WANG Yunxia, ZHANG Miaomiao, XIE Zhimin

Author Affiliation: Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi 710054, China

Abstract: **Objective** To establish a method for content determination of preservatives in *Yinzhihuang* oral liquid, and to evaluate the safety of the preservative. **Methods** High performance liquid chromatography (HPLC) with variable wavelength was used. The Agilent C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used, methanol-0.02 mol/L sodium dihydrogen phosphate solution (adjusting pH=3.7 by phosphate) was used as mobile phase in gradient elution mode at the flow rate of 1.0 mL/min, and the temperature of column was 30 °C. The analyte was determined with variable wavelength detector. Benzoic acid was detected at 228 nm, sorbic acid and methyl p-hydroxybenzoate, ethylp-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate and butyl p-hydroxybenzoate were detected at 255 nm. **Results** The linear ranges of benzoic acid, sorbic acid, methyl p-hydroxybenzoate, ethylp-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate and butyl p-hydroxybenzoate were 77.11-4 935 ng ($r=0.999\ 9$), 100.00-6 437 ng ($r=0.999\ 9$), 13.00-814 ng ($r=0.999\ 9$), 70.00-4 524 ng ($r=0.999\ 9$), 12.00-794 ng ($r=0.999\ 9$), 13.00-823 ng ($r=0.999\ 9$), respectively. RSDs of precision ($n=6$), reproducibility ($n=6$) and stability tests (24 h, $n=8$) were all lower than 1.0%. The detection limits were 0.600 ng, 0.015 ng, 0.025 ng, 0.090 ng, 0.010 ng and 0.022 ng, respectively. The quantitation limits were 2.40 ng, 0.14 ng, 0.33 ng, 0.27 ng, 0.04 ng and 0.08 ng, respectively. The recoveries were 100.69%, 98.44%, 101.21%, 104.18%, 103.95% and 103.55%. RSDs were 0.24%, 0.29%, 0.72%, 0.71%, 0.44% and 0.34% ($n=6$). Preservatives were not detected in addition to benzoic acid in 32 batches of samples. **Conclusions** This method is suitable for the determination of preservatives in *Yinzhihuang* Oral liquid. Although the other preservatives were not detected in the sample, it is advisable to add the determination of preservatives so as to improve its safety.

Key words: Preservatives, pharmaceutical; Benzoic acid; *Yinzhihuang* oral liquid; Chromatography, high pressure liquid

茵栀黄口服液是2019年国家评价性抽检品种,具有清热解毒,利湿退黄,用于肝胆湿热所致的黄疸,症见面目悉黄、胸肋胀痛等;由茵陈提取物12 g、栀子提取物6.4 g、黄芩苷40 g和金银花提取物8 g按照工艺制成1 000 mL,质量标准中制法项规定添

加有0.3%的苯甲酸钠作为防腐剂^[1],以防止茵栀黄口服液在储存过程中发生霉变,2015年版《中国药典》(四部)通则0181合剂^[2]项下规定苯甲酸的用量不得超过0.3%,添加防腐剂过少起不到防腐作用,口服液在储存过程中会变质,添加过量防腐剂,容

易导致人体摄入防腐剂过多,会对人体造成一定危害,过量摄入苯甲酸和苯甲酸钠,会造成肝毒性及肾毒性,有研究表明还会造成染色体分裂异常甚至致癌,故苯甲酸和苯甲酸钠的过量摄食是不合适的^[3],这就必须严格控制工艺,严格控制处方中的加入量,防止少加,多加及乱加别的防腐剂,才能保证药品的安全有效。

目前检测防腐剂方法主要有高效液相色谱法^[4-12]和高效液相色谱-质谱联用法^[13]。高效液相色谱-质谱联用法所用仪器较昂贵,不易普及,为了满足普通实验室的检测需求,本实验拟采用变换波长高效液相色谱法,筛选出6种防腐剂作为目标物,并对来自全国抽检的32批次茵栀黄口服液进行相关检测,为茵栀黄口服液的安全性评价提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent科技有限公司);SPD-M10AVP二极管阵列检测器(日本岛津公司);BT124S型电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司)。

1.1.2 药品与试剂 32批次样品均为国家评价性抽检样品,均来自于北京华润高科天然药物有限公司(独家产品,最早生产批号2721247,生产日期是2017年10月;最晚生产批号181216,生产日期是2018年12月,1个规格:10毫升/支,服用剂量为一次10 mL)。

苯甲酸对照品(中国食品药品鉴定研究院,批号100419-201703,含量99.9%)、山梨酸钾对照品(中国食品药品鉴定研究院,批号101075-201602,含量99.7%)、羟苯甲酯对照品(中国食品药品鉴定研究院,批号100278-201705,含量100.0%)、羟苯乙酯对照品(中国食品药品鉴定研究院,批号100847-201604,含量99.9%)、羟苯丙酯对照品(中国食品药品鉴定研究院,批号100444-201804,含量99.6%)、羟苯丁酯对照品(中国食品药品鉴定研究院,批号110792-200503,含量100.0%);乙腈、甲醇均为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.02 mol/L磷酸二氢钠溶液(B)(用磷酸调pH值3.7)(V/V),梯度洗脱(洗脱程序详见表1);流速:1.0 mL/min;柱温:30 °C;紫外检测器;苯甲酸以228 nm为检测波长,山梨酸、羟苯甲酯、羟苯乙酯、羟苯丙酯及羟苯丁酯以255 nm为检测波长;进样体积10 μL。

表1 梯度洗脱顺序

时间	甲醇(A)/%	0.02 mol/L磷酸二氢钠溶液(B)/%
0 min	25	75
48 min	25	75
49 min	44	56
69 min	44	56
70 min	54	46
102 min	54	46
103 min	90	10
113 min	90	10

1.2.2 溶液的制备

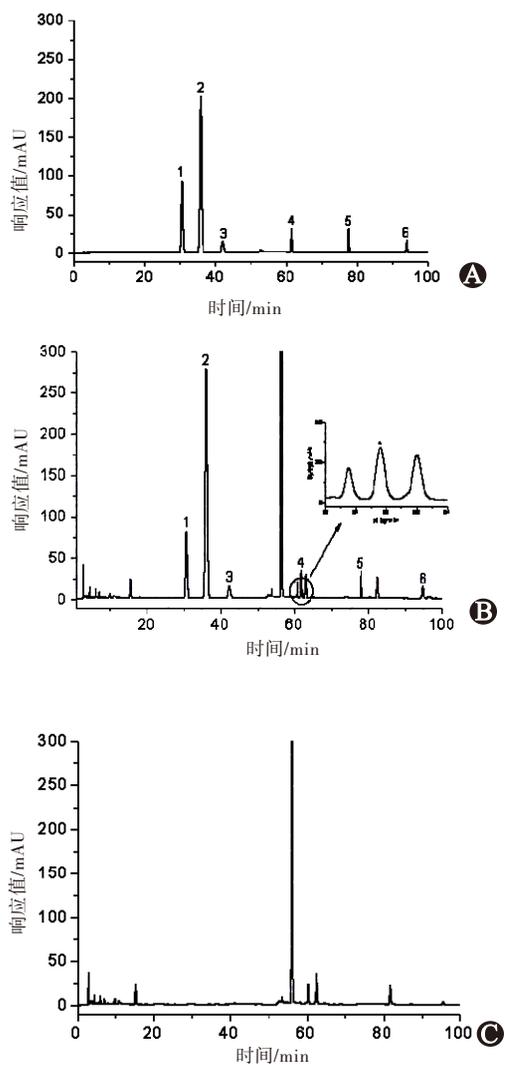
1.2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取苯甲酸、山梨酸钾、羟苯甲酯、羟苯乙酯、羟苯丙酯、羟苯丁酯适量,分别加50%甲醇制成240、80、10、10、10、10 mg/L的溶液,即得。

1.2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取样品1 mL,置50 mL量瓶中,加50%甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜滤过,取续滤液即得。

1.2.3 系统适用性试验 精密称取山梨酸钾对照品215.24 mg、羟苯甲酯对照品22.88 mg、羟苯乙酯对照品22.72 mg、羟苯丙酯对照品19.88 mg、羟苯丁酯20.88 mg,置同一50 mL量筒中,加茵栀黄口服液(批号181206)使溶解至40 mL,摇匀,即得茵栀黄口服液模拟阳性样品,精密吸取茵栀黄口服液模拟阳性样品、茵栀黄口服液阴性样品(未加防腐剂),分别按照“1.2.2.2”项下制备茵栀黄口服液模拟阳性样品供试品溶液及茵栀黄口服液阴性样品供试品溶液。精密吸取以上2种溶液及“1.2.2.1”项下对照品溶液,按“1.2.1”项下条件进行测定,记录色谱图。结果,相邻色谱峰的分离度均大于1.5;苯甲酸的理論塔板数为20 655、山梨酸的理論塔板数为20 417、羟苯甲酯的理論塔板数为19 988、羟苯乙酯的理論塔板数为193 447、羟苯丙酯的理論塔板数为442 048、羟苯丁酯的理論塔板数为165 648;阴性无干扰;同时对生产批号2721247,生产日期为2017年10月;生产批号272538,生产日期为2018年4月;生产批号272848,生产日期为2018年6月的三批次产品也做了加标模拟阳性试验,目标峰与杂质峰均能很好分离且无干扰。以二极管阵列检测器测定,茵栀黄口服液模拟阳性样品中6种防腐剂色谱峰的紫外吸收图谱与对照品溶液色谱峰的紫外吸收图谱一致。结果见图1。

1.2.4 方法学考察

1.2.4.1 线性关系考察 精密称取羟苯甲酯对照品10.18 mg、羟苯乙酯对照品10.02 mg、羟苯丙酯对照



注:1—苯甲酸;2—山梨酸;3—羟苯甲酯;4—羟苯乙酯;5—羟苯丙酯;6—羟苯丁酯。

图1 茵栀黄口服液HPLC图:A为对照品,B为模拟阳性样品,C为阴性样品

品 9.97 mg、羟苯丁酯对照品 10.29 mg,置同一 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇使溶解至刻度,摇匀,作为对羟基苯甲酸酯类的对照品储备溶液;精密称取苯甲酸对照品 12.35 mg、山梨酸钾对照品 16.14 mg,置同一 25 mL 量瓶中,精密加入对羟基苯甲酸酯类的对照品储备溶液 10 mL,用 50% 甲醇使溶解,并加至刻度,摇匀,作为 6 号对照品溶液;精密吸取 6 号对照品溶液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,作为 5 号对照品溶液;精密吸取 5 号对照品溶液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,作为 4 号对照品溶液;精密吸取 4 号对照品溶液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,作为 3 号对照品溶液;精密吸取 3 号对照品溶液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,作为 2 号对照品溶液;精密吸取 2

号对照品溶液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,作为 1 号对照品溶液;精密吸取 1 号对照品溶液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,作为 0 号对照品溶液。吸取上述 7 种不同质量浓度溶液各 10 μ L 注入液相色谱仪,按“1.2.1”项下条件进行测定。以进样质量(C , ng)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标绘制标准曲线,标准曲线方程和线性范围见表 2。

表 2 标准曲线方程及线性范围

成分	标准曲线方程	r 值	线性范围/ng
苯甲酸	$A=4.8950C+12.8220$	0.9999	77~4935
山梨酸	$A=9.1716C+137.1200$	0.9999	100~6437
羟苯甲酯	$A=5.9346C+4.7765$	0.9999	13~814
羟苯乙酯	$A=5.6411C+6.2991$	0.9999	70~4524
羟苯丙酯	$A=5.2428C+6.6858$	0.9999	12~794
羟苯丁酯	$A=4.9065C+5.1274$	0.9999	13~823

1.2.4.2 精密度试验 精密吸取“1.2.4.1”项下 1、3、6 号对照品溶液各 10 μ L,按“1.2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果,6 种防腐剂峰面积的 RSD 均小于 0.6% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

1.2.4.3 重复性试验 由本实验室的两名实验员取“1.2.3”项下的茵栀黄口服液模拟阳性样品在不同时间按照“1.2.2.2”项下方法制备供试液,用“1.2.4.1”项下 3 号对照品溶液作为对照,用不同仪器按“1.2.1”项下条件进行测定,结果 6 种防腐剂的含量的 RSD 均小于 0.90% ($n=12$),表明该方法的重复性良好。

1.2.4.4 稳定性试验 精密吸取“1.2.4.3”项下茵栀黄口服液模拟阳性供试品溶液(第一次实验员制备的供试液),放置 0、2、4、8、12、16、20、24 h 后按“1.2.1”项下色谱条件进行测定。结果,6 种防腐剂峰面积的 RSD 均小于 0.6% ($n=8$),表明该样品在 24 h 内有很好的稳定性。

1.2.4.5 加样回收率试验 精密称取苯甲酸对照品 62.85 mg、山梨酸钾对照品 91.64 mg、羟苯甲酯对照品 14.13 mg、羟苯乙酯对照品 13.08 mg、羟苯丙酯对照品 12.48 mg、羟苯丁酯对照品 15.37 mg,置同一 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇使溶解至刻度,摇匀,作为加样对照品溶液。精密吸取重复性试验项下的模拟阳性样品 1 mL,6 份,分别置 100 mL 量瓶中,分别精密加入上述对照品溶液 2 mL,加 50% 甲醇使溶解至刻度,摇匀,用微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。取“1.2.4.1”项下 3 号对照品溶液作为对照,按“1.2.1”项下色谱条件进行测定,结果 6 种防腐

剂平均加样回收率分别为 100.69%、98.44%、101.21%、104.18%、103.95%、103.55%，RSD 分别为 0.24%、0.29%、0.72%、0.71%、0.44%、0.34% ($n=6$) 结果见表 3。

表 3 6 种防腐剂的回收率测定结果 ($n=6$)

成分	取样量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %
苯甲酸	2.564 1	2.511 5	5.095 5	100.79
	2.564 1	2.511 5	5.096 4	100.83
	2.564 1	2.511 5	5.083 2	100.30
	2.564 1	2.511 5	5.095 9	100.81
	2.564 1	2.511 5	5.087 6	100.48
	2.564 1	2.511 5	5.098 8	100.92
山梨酸	3.775 7	3.592 3	7.292 4	97.89
	3.775 7	3.592 3	7.312 3	98.45
	3.775 7	3.592 3	7.322 7	98.74
	3.775 7	3.592 3	7.318 3	98.62
	3.775 7	3.592 3	7.312 3	98.45
	3.775 7	3.592 3	7.313 9	98.50
羟苯甲酯	0.541 2	0.565 2	1.114 2	101.39
	0.541 2	0.565 2	1.107 2	100.15
	0.541 2	0.565 2	1.111 6	100.92
	0.541 2	0.565 2	1.111 7	100.93
	0.541 2	0.565 2	1.119 5	102.31
	0.541 2	0.565 2	1.115 2	101.56
羟苯乙酯	0.516 8	0.5227	1.063 2	104.54
	0.516 8	0.5227	1.061 3	104.18
	0.516 8	0.5227	1.067 6	105.38
	0.516 8	0.5227	1.061 3	104.16
	0.516 8	0.5227	1.058 3	103.60
	0.516 8	0.5227	1.056 5	103.25
羟苯丙酯	0.539 2	0.497 2	1.054 2	103.57
	0.539 2	0.497 2	1.056 1	103.96
	0.539 2	0.497 2	1.055 7	103.88
	0.539 2	0.497 2	1.054 5	103.63
	0.539 2	0.497 2	1.055 5	103.84
	0.539 2	0.497 2	1.060 4	104.83
羟苯丁酯	0.615 4	0.614 8	1.250 9	103.37
	0.615 4	0.614 8	1.254 9	104.01
	0.615 4	0.614 8	1.253 8	103.84
	0.615 4	0.614 8	1.252 1	103.56
	0.615 4	0.614 8	1.251 6	103.47
	0.615 4	0.614 8	1.248 8	103.02

1.2.4.6 最低方法检出限和定量限 精密称取羟苯甲酯对照品 9.07 mg、羟苯乙酯对照品 4.39 mg，置 5 mL 量瓶中，加 50% 甲醇溶解至刻度，摇匀，作为 1 号储备溶液；精密称取羟苯丙酯对照品 7.99 mg、羟苯丁酯对照品 6.58 mg、山梨酸钾对照品 5.39 mg，置 50 mL 量瓶中，加 50% 甲醇溶解至刻度，摇匀，作为 2 号储备溶液；精密称取苯甲酸对照品 8.04 mg，置 50 mL

量瓶中，精密加入 1 号储备溶液 3 mL、2 号储备溶液 3 mL，加 50% 甲醇溶解至刻度，摇匀，作为 1 号加样对照品溶液。精密量取 1 号加样对照品溶液 1.5 mL，置 5 mL 量瓶中，加水至刻度，摇匀，作为 2 号加样对照品溶液。精密量取“1.2.3”项下模拟阴性样品 1 mL，4 份，分别置 50 mL 量瓶中，分别精密加入上述 1 号对照品溶液 0.7 mL、1.3 mL 和 2 号对照品溶液 0.7 mL、1.3 mL，各加 50% 甲醇至刻度，摇匀，用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液作为定量限和检测限供试品溶液。按“1.2.1”项下色谱条件进行测定，按色谱峰峰高与基线噪声的比值计算，基线噪音 3 倍量峰高时的含量为最低检出限、基线噪音 10 倍量峰高时的含量为最低定量限。结果苯甲酸的最低检出限为 0.600 ng，最低定量限为 2.400 ng；山梨酸钾的最低检出限为 0.015 ng，最低定量限为 0.140 ng；羟苯甲酯的最低检出限为 0.025 ng，最低定量限为 0.330 ng；羟苯乙酯的最低检出限为 0.090 ng，最低定量限为 0.270 ng；羟苯丙酯的最低检出限为 0.010 ng，最低定量限为 0.040 ng；羟苯丁酯的最低检出限为 0.022 ng，最低定量限为 0.080 ng。

2 结果

对抽检的 32 批次茵栀黄口服液按照“1.2.2.2”项制备方法制备供试液，按照“1.2.2.1”项浓度配制对照品溶液浓度，按“1.2.1”项色谱条件进行测定，32 批均检出苯甲酸，含量范围 2.393 0 ~ 2.591 9 g/L，32 批均未检出其他 5 种防腐剂。对于苯甲酸限度的确定，根据 2015 年版《中国药典》(四部)通则 0181 合剂项下规定苯甲酸的用量不得超过 0.3%，根据茵栀黄口服液处方及工艺，每 1 000 毫升加苯甲酸钠 3 g，换算为苯甲酸 2.54 g，按照工艺偏差 $\pm 10\%$ 计算，暂拟定每 1 mL 含苯甲酸钠以苯甲酸计，应为 2.29 ~ 2.79 mg。

3 讨论

3.1 波长的确定 在进行液相色谱法测定时，一般选取目标物的最大吸收波长来进行检测，此时检测灵敏度最高，但在多组分测定时单一波长很难满足测定需求，故选用变换波长法。用二极管阵列检测器通过全波长光谱扫描得出苯甲酸的最大吸收为 228 nm，山梨酸的最大吸收为 252 nm，羟苯甲酯的最大吸收为 255 nm，羟苯乙酯的最大吸收为 255 nm，羟苯丙酯的最大吸收为 255 nm，羟苯丁酯的最大吸收为 256 nm，除苯甲酸外，其余 5 种成分最大吸收波长差距不大，为了减少变换波长的频次，并且对山梨酸检测波长在 252 nm 和 255 nm、羟苯丁酯检测波长在 256 nm 和 255 nm 下的峰面积进行比较，差异不大，最终进行组合，确定了 6 种防腐剂的最大的吸

收,确定了正文中的检测波长。

3.2 色谱条件的确定 在预试验中,笔者分别选用了等度洗脱和梯度洗脱两种类型进行试验,等度流动相有甲醇-0.15% 乙酸铵(20:80, V/V)、甲醇-乙腈-0.15% 乙酸铵(10:5:80, V/V/V),结果是基线较平,出峰过快,苯甲酸和山梨酸色谱峰不能完全分离,达不到改变波长的要求,目标物色谱峰出峰时间漂移。梯度洗脱程序①:流动相(A)甲醇-(B)0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调 pH 值 3.5),程序(V/V) 0~30 min(A)20%→80%,(B)80%→20%,30~40 min(A)80%,(B)20%,梯度洗脱程序②:流动相(A)甲醇-(B)0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调 pH 值 3.5),程序(V/V) 0~40 min(A)20%→80%,(B)80%→20%,40~50 min(A)80%,(B)20%,结果是山梨酸和羟苯甲酯的色谱峰完全重合,无法分析;梯度洗脱程序③:流动相(A)甲醇-(B)0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调 pH 值 3.7),程序(V/V) 0~40 min(A)20%→80%,(B)80%→20%,40~50 min(A)80%,(B)20%,结果对照色谱峰能够完全分离,供试品色谱峰除羟苯乙酯色谱峰前后有干扰之外,其余均能完全分离,继续在此基础上调整流动相,在 49~69 min 期间采用过流动相(A)由 25% 逐步升至 50%、由 25% 逐步升至 48%,色谱图分离效果不如 49~69 min(A)44%,(B)56%,在系统适用性过程中采用在 49~69 min(A)43%,(B)57%、(A)45%,(B)55%,均能达到分离效果,分析原因,4 号峰左右侧杂质峰与 4 号目标物极性相似,利用梯度洗脱改变了流动相配比,出峰速度不能达到恒速,故效果不如等度洗脱。最终确定梯度洗脱程序④:流动相(A)甲醇-(B)0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调 pH 值 3.7),程序(V/V) 0~48 min(A)25%,(B)75%,48~49 min(A)25%→44%,(B)75%→56%,49~69 min(A)44%,(B)56%,69~70 min(A)44%→54%,(B)56%→46%,70~102 min(A)54%,(B)46%,102~103 min(A)54%→90%,(B)46%→10%,103~113 min(A)90%,(B)10%,结果 6 种防腐剂峰形对称,无干扰,分离度好。与乙酸铵系列流动相比,优势在于流动相配置好后,流动相的 pH 值不会发生变化,色谱峰的时间不会漂移,在配制流动项时需要注意的是 0.02 mol/L 磷酸二氢钠溶液用磷酸调 pH 值时,一定要准确用

酸度计调至 3.7,否则山梨酸和羟苯甲酯色谱峰会完全重合,在此条件下进行测定用三个厂家色谱柱试验均能达到较好的分离效果。

3.3 小结 茵栀黄口服液目前所执行的标准无防腐剂检测项,并且本品还会在新生儿黄疸中使用,考虑到安全性,故建议增加防腐剂检查项。本实验建立的方法,6 种防腐剂色谱峰的分离度较高,回收率平行性较好,最大优点是正文中的流动相可以将目标峰与周围杂质峰完全分离,避免造成假阳性结果,该方法可以为茵栀黄口服液中防腐剂的检查提供一定的依据,也可以为其他口服液在防腐剂的检查中提供一定的参考价值。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:1146.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:26.
- [3] 李锦玉,李荣欣,李京路,等. 苯甲酸钠多次给药对大鼠肝肾功能的影响[J]. 郑州大学学报:医学版,2015,50(1):134-138.
- [4] 王玉辉,郭璞. 建立口服液体制剂中苯甲酸、山梨酸、糖精钠的含量检测方法[J]. 中国药事,2015,29(3):313-316.
- [5] 李本淳,王丹. HPLC 法测定复方水杨酸苯甲酸搽剂中水杨酸和苯甲酸的含量[J]. 中国药物评价,2017,34(4):255-257.
- [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] 高丹,程丽萍,郇瑜,等. 三酸散的制备及苯甲酸和水杨酸的含量测定[J]. 安徽医药,2015,19(1):47-50.
- [8] 刘存富. HPLC 法测定蛋白琥珀酸铁口服液中防腐剂的含量[J]. 安徽医药,2015,19(1):53-55.
- [9] 王发英,吴查青,陈张金,等. 复方鱼腥草合剂中 3 个有效成分及防腐剂的含量测定[J]. 中国现代应用药学,2018,35(3):399-403.
- [10] 李向阳,高洁,屠万倩,等. RP-HPLC 法测定逍遥丸(水丸)中芍药苷、苯甲酸和苯甲酰基总苷[J]. 中成药,2015,37(8):1722-1727.
- [11] 李秀敏,赵颖,杨宁,等. 海勒氏液中苯甲酸、水杨酸的含量测定[J]. 药物分析杂志,2015,35(11):2032-2035.
- [12] 魏硕,董诚明,朱昀昊,等. 新疆引种芍药根不同部位芍药苷及苯甲酸分布规律研究[J]. 中药材,2017,40(4):828-830.
- [13] 张勋,刘韬,吴连鹏,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定多种食品中 7 种酚类抗氧化剂和对羟基苯甲酸酯类防腐剂[J]. 食品与发酵工业,2016,42(11):206-211.

(收稿日期:2020-03-26,修回日期:2020-05-07)