

HPLC法同时测定干髓糊剂中丁香酚和麝香草酚的含量^Δ

曹伟宇*,贺文娟,雷 丸,王晓娟*(军事口腔医学国家重点实验室/国家口腔疾病临床医学研究中心/陕西省口腔生物工程技术研究/第四军医大学口腔医院药剂科,西安 710032)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)30-4268-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.30.24

摘要 目的:建立同时测定干髓糊剂中丁香酚和麝香草酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Wonda Cract C₁₈,流动相为甲醇-0.2%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为274 nm,柱温为25℃,进样量为10 μL。结果:丁香酚和麝香草酚检测质量浓度线性范围分别为0.02~0.19 mg/mL($r=0.9997$)、0.03~0.30 mg/mL($r=0.9996$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为95.85%~99.84%(RSD=1.11%, $n=9$)、95.81%~100.91%(RSD=1.59%, $n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确,可用于干髓糊剂中丁香酚和麝香草酚含量的同时测定。

关键词 高效液相色谱法;干髓糊剂;丁香酚;麝香草酚;含量测定

Simultaneous Determination of Eugenol and Thymol in Mummification Pastes by HPLC

CAO Weiyu, HE Wenjuan, LEI Wan, WANG Xiaojuan(State Key Lab of Military Stomatology/National Clinical Research Center for Oral Diseases/Shaanxi Engineering Research Center for Dental Materials and Advanced Manufacture/Dept. of Pharmacy, Stomatology Hospital of Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of eugenol and thymol in mummification pastes. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Wonda Cract C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.2% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 274 nm, and column temperature was set at 25℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of eugenol and thymol

根据相关文献报道,丹参的水溶性成分在一定条件下会互相转化^[4]。故本试验样品中丹参重要有效成分的含量测定以3种成分的总量进行计算。

综上所述,本方法操作简便、结果准确、精密度好,可用于参柏舒心颗粒中4种成分含量的同时测定。

参考文献

- [1] 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:第七册[S].1993:184.
- [2] 刘惠,开金龙.丹参的现代研究进展[J].甘肃中医,2010,23(2):70-72.
- [3] 杨志霞,林谦,马利.丹参对心血管疾病药理作用的文献研究[J].世界中西医结合杂志,2012,7(2):93-96.
- [4] 马丙祥,董龙凯.丹参的药理作用研究新进展[J].中国药房,2014,25(7):663-665.
- [5] 姜昕易,张辉芬,王胜男,等.ILS-HPLC同时测定黄柏中5种生物碱含量[J].中国中药杂志,2014,39(19):3808-3811.
- [6] 刘江亭,李慧芬,崔伟亮.川黄柏、关黄柏饮片和水煎液中3种生物碱含量的比较研究[J].山东中医药大学学报,

- 2013,37(5):437-438,441.
- [7] 周松,刘永刚,张国祥.黄柏化学成分及质量控制研究进展[J].中国药房,2012,23(39):3740-3742.
- [8] 许丽雯,奚之骏,杨铭,等.RP-HPLC法同时测定镇惊泻火颗粒中丹参素钠、原儿茶醛、丹酚酸B和甘草苷[J].中成药,2013,35(10):2157-2159.
- [9] 于晶晶,徐飞鹤.RP-HPLC同时测定香丹注射液中丹参素钠、原儿茶醛和丹酚酸B的含量[J].海峡药学,2012,24(2):45-47.
- [10] 王紫燕,李春沁,穆敏婕,等.HPLC波长切换法同时测定补肾活血方中丹参素、葛根素、大豆苷和丹酚酸B的含量[J].药物分析杂志,2016,36(6):1020-1025.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:630-631,713-714.
- [12] 国家药典委员会.国家药品标准WS₃-B-1445-93-2[S].2012.
- [13] 吴笛,叶秋雄,李楚源.一测多评法测定复方丹参片中5种酚酸类成分的含量[J].中国新药杂志,2013,22(18):2130-2135,2173.
- [14] 张洪超,李伟,马晓慧,等.丹参水溶性成分间相互转化及相互作用研究进展[J].医学综述,2014,20(9):1647-1649.

Δ 基金项目:军队医疗机构制剂标准提高研究项目(No.13ZJZ08)

*药师,硕士。研究方向:药剂学。电话:029-84773998。E-mail:464970076@qq.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药剂学与新药。电话:029-84776189。E-mail:wxjyh231@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2017-05-09 修回日期:2017-07-15)

(编辑:刘 柳)

were 0.02-0.19 mg/mL ($r=0.9997$) and 0.03-0.30 mg/mL ($r=0.9996$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2.0%. The recoveries were 95.85%-99.84% (RSD=1.11%, $n=9$) and 95.81%-100.91% (RSD=1.59%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be applied to simultaneous determination of eugenol and thymol in mummification pastes.

KEYWORDS HPLC; Mummification pastes; Eugenol; Thymol; Content determination

干髓糊剂是2015年版《中国人民解放军医疗机构制剂规范》收录的口腔用标准制剂,具有消炎止痛、凝固蛋白和固定牙髓组织的作用^[1]。本制剂主要成分为多聚甲醛、丁香酚和麝香草酚等。其中,丁香酚具有抗菌消炎的功效,且在牙髓失活过程中起到麻醉镇痛的作用;麝香草酚具有抗菌消毒的作用,用于根管、窝洞消毒及间接盖髓^[2-4]。原质量标准未规定本制剂重要活性成分丁香酚和麝香草酚的含量测定方法,且尚未有同时测定本制剂中两种成分含量的报道。鉴于此,本课题组参考相关文献^[5-7],采用高效液相色谱法(HPLC)建立了同时测定该制剂中丁香酚和麝香草酚含量的方法,以期完善该制剂的质量标准提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010A型HPLC仪,LC-Solution色谱工作站(日本Shimadzu公司);BT125D型电子天平(德国Sartorius公司);Milli-Q Advantage A10型超纯水仪(美国Millipore公司)。

1.2 药品与试剂

干髓糊剂(我院自制,批号:170218、170308、170329,规格:20 mL/瓶);丁香酚对照品(批号:110725-201213,纯度:99.7%)、麝香草酚对照品(批号:100508-201603,纯度:99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Wonda Cract C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.2%磷酸溶液(B),梯度洗脱(洗脱程序见表1);流速:1.0 mL/min;检测波长:274 nm;柱温:25℃;进样量:10 μL。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

时间, min	A, %	B, %
0	45	55
10	60	40
12.6	75	25
20	75	25

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取丁香酚对照品26.25 mg,精密称定,置于25 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得每1 mL含1.05 mg的丁香酚对照品贮备液;取麝香草酚对照品约37.25 mg,精密称定,置于25 mL量

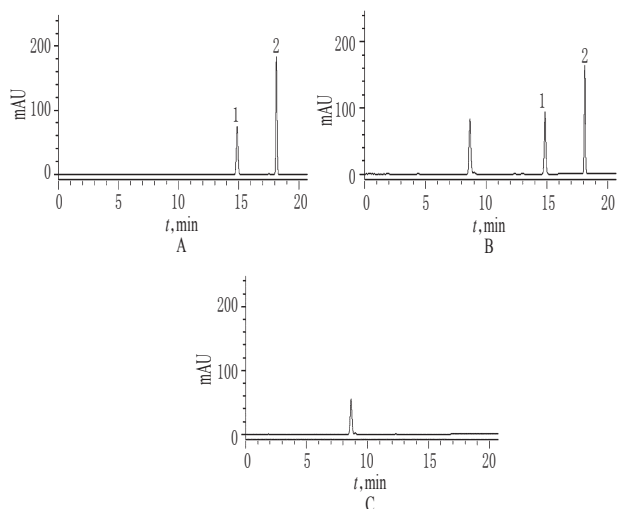
瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得每1 mL含1.49 mg的麝香草酚对照品贮备液。分别精密量取丁香酚对照品贮备液和麝香草酚对照品贮备液各1 mL,置于同一10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得每1 mL含丁香酚0.105 mg和麝香草酚0.149 mg的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品约1 g,精密称定,置于100 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,再精密量取2 mL,置于50 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品的制备工艺和配方比例制备不含丁香酚和麝香草酚的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液、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,各成分均能达到基线分离,分离度>1.5;理论板数以丁香酚峰计为48 464,保留时间为14.864 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。



A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 丁香酚; 2. 麝香草酚
A. mixed control; B. test sample; C. negative control; 1. eugenol; 2. thymol

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

取“2.2.1”项下丁香酚和麝香草酚的单一对照品贮备液各0.1、0.25、0.4、0.5、0.75、1 mL,相同体积贮备液置于同一5 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得系

列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度($x, \text{mg/mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得丁香酚和麝香草酚回归方程为 $y = 7\ 567\ 020.79x + 1\ 572.79$ ($r = 0.999\ 7$)和 $y = 7\ 766\ 556.23x + 6\ 519.97$ ($r = 0.999\ 6$)。结果表明,丁香酚和麝香草酚检测质量浓度线性范围分别为 $0.02 \sim 0.19$ 、 $0.03 \sim 0.30 \text{ mg/mL}$ 。

2.5 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,丁香酚和麝香草酚峰面积的RSD分别为1.59%、1.55% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

精密量取同一供试品溶液(批号:170218)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,丁香酚和麝香草酚峰面积的RSD分别为0.34%、1.67% ($n = 5$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批样品(批号:170218)适量,精密称定,按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,丁香酚和麝香草酚的平均含量分别为0.262 5、0.291 1 mg/g, RSD分别为1.15%、1.14% ($n = 6$),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取样品(批号:170218)适量,共9份,每份约10 mg,分别置于50 mL量瓶中,各加入低、中、高质量的丁香酚和麝香草酚对照品,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,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,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,记录峰面积并计算样品含量,结果见表3。

3 讨论

3.1 方法耐用性考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,分别考察不同厂家色谱柱(Agilent Zorbax Eclipse XDB C₁₈、Wonda Cract C₁₈、Dikma Diamonsil C₁₈)、流速($\pm 0.2 \text{ mL/min}$)、柱温($\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$)、流动相pH(± 0.2 ,即分别用0.1%磷酸溶液、0.2%磷酸溶液、0.3%磷酸溶液)等不同条件下的方法耐用性。结果显示,不同条件下丁香酚和麝香草酚峰面积的RSD均 $< 2.0\%$,表明本方法耐用性良好。

3.2 检测波长的选择

根据紫外光谱扫描显示,丁香酚在210、230、280 nm波长处均有最大吸收,麝香草酚在274 nm波长处有最大吸收。为了同时测定这两种成分,兼顾两者的检测灵敏

表2 加样回收率试验结果($n = 9$)

Tab 2 Results of recovery tests ($n = 9$)

待测成分	取样量, mg	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, %
丁香酚	9.99	2.622	2.100	4.664	97.24	97.35	1.11
	10.04	2.635	2.100	4.677	97.24		
	10.02	2.630	2.100	4.682	97.71		
	10.01	2.627	2.625	5.165	96.69		
	10.03	2.632	2.625	5.148	95.85		
	10.00	2.625	2.625	5.186	97.56		
	9.99	2.622	3.150	5.675	96.92		
	9.96	2.614	3.150	5.672	97.08		
	9.99	2.622	3.150	5.767	99.84		
	9.99	2.908	2.384	5.247	98.11		
麝香草酚	10.04	2.923	2.384	5.207	95.81	98.31	1.59
	10.02	2.917	2.384	5.266	98.53		
	10.01	2.914	2.980	5.921	100.91		
	10.03	2.910	2.980	5.874	99.46		
	10.00	2.911	2.980	5.882	99.70		
	9.99	2.908	3.576	6.397	97.57		
	9.96	2.899	3.576	6.403	97.99		
	9.99	2.908	3.576	6.368	96.76		

表3 样品含量测定结果($n = 3, \text{mg/g}$)

Tab 3 Results of contents determination of samples ($n = 3, \text{mg/g}$)

样品批号	丁香酚	麝香草酚
170218	0.259 4	0.287 6
170308	0.262 8	0.291 6
170329	0.261 2	0.288 3

度,并排除其他组分干扰,经多次试验,结果表明丁香酚和麝香草酚在274 nm波长处均有良好的吸收。故最终选择检测波长为274 nm。

3.3 流动相的选择

本试验考察了不同体积分数的甲醇-甲酸、甲醇-乙酸、甲醇-磷酸溶液作为流动相^[7-10],结果表明采用甲醇-0.2%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱时,待测成分峰形良好、保留时间适宜。因此,本试验选择甲醇-0.2%磷酸溶液(梯度洗脱)为流动相。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,可用于干髓糊剂中丁香酚和麝香草酚含量的同时测定。

参考文献

- [1] 解放军总后勤部卫生部.中国人民解放军医疗机构制剂规范[S].2015年版.北京:人民军医出版社,2015:106-107.
- [2] 危雪平,马金刚,郭飞燕,等.柱前衍生HPLC法测定干髓糊剂中多聚甲醛的含量[J].中国药房,2014,25(37):3507-3510.
- [3] 俞懿强.丁香酚的药理作用及在口腔医学应用的研究进展[J].临床口腔医学杂志,2009,25(3):187-189.
- [4] 何崇慧,高磊,贾燕花,等.HPLC法测定麝香草酚醇溶液中麝香草酚的含量[J].中国药师,2014,17(10):1782-1783.
- [5] 陈伟,杨珺,杨谨成,等.HPLC法同时测定复方麝香草酚溶液中3种有效成分的含量[J].中国药房,2016,27(15):

UPLC-MS法检测动物类药材中氯霉素类药物残留^Δ

张治军^{1*},周文杰¹,李志芸²(1.广西壮族自治区桂林食品药品检验所,广西桂林 541001;2.桂林医学院药学院,广西桂林 541004)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)30-4271-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.30.25

摘要 目的:建立检测动物类药材中氯霉素类药物残留的方法。方法:采用超高效液相色谱-质谱法。色谱柱为SB-C₁₈,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为0.2 mL/min,柱温为35 ℃,进样量为20 μL;离子源为电喷雾离子源,干燥气温度为350 ℃,干燥气流速为5 L/min,鞘气温度为250 ℃,鞘气流速为11 L/min,毛细管电压为3 500 V,负离子扫描方式,多反应检测模式。结果:氯霉素、氟甲砜霉素和甲砜霉素检测质量浓度线性范围均为0.5~15 ng/mL(*r*分别为0.999 8、0.999 9、0.998 9);定量限分别为0.03、0.03、0.15 μg/kg,检测限分别为0.01、0.01、0.05 μg/kg;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;回收率分别为84.00%~112.80%(RSD=10.15%,*n*=9)、88.24%~109.80%(RSD=7.11%,*n*=9)、88.24%~99.02%(RSD=3.91%,*n*=9)。结论:该方法操作简便,精密性、稳定性、重复性好,可用于动物类药材中氯霉素类药物残留的检测。

关键词 动物类药材;氯霉素类药物残留;超高效液相色谱-质谱法

Determination of Chloramphenicol Residue in Animal Medicinal Herbs by UPLC-MS

ZHANG Zhijun¹, ZHOU Wenjie¹, LI Zhiyun²(1.Guangxi Guilin Institute for Food and Drug Control, Guangxi Guilin 541001, China;2.College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guangxi Guilin 541004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for determination of chloramphenicol residue in animal medicinal herbs. METHODS: UPLC-MS method was adopted. The determination was performed on SB-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 0.2 mL/min. The column temperature was 35 ℃, and sample size was 20 μL. The ion source was a jet stream ion focusing electrospray ion source. The temperature and flow of drying gas were 350 ℃ and 5 L/min, and those of sheath gas were 250 ℃, 11 L/min, and capillary voltage was 3 500 V. Negative ion scanning mode was conducted with multiple reaction monitoring (MRM) mode. RESULTS: The linear ranges of thiamphenicol, florfenicol and chloramphenicol were 0.5-15 ng/mL(*r* were 0.999 8, 0.999 9, 0.998 9, respectively). The limits of quantitation were 0.03, 0.03, 0.15 μg/kg, and the limits of detection were 0.01, 0.01, 0.05 μg/kg. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.0%. The recoveries were 84.00% -112.80% (RSD=10.15%, *n*=9), 88.24% -109.80% (RSD=7.11%, *n*=9), 88.24% -99.02% (RSD=3.91%, *n*=9). CONCLUSIONS: The method is simple, precise, stable and reproducible, and can be used for determination of chloramphenicol in animal medicinal herbs.

KEYWORDS Animal medicinal herbs; Chloramphenicol residue; UPLC-MS

动物类药材的应用在我国有着悠久历史,在中药材的发展史中有着重要的地位。随着自然资源的匮乏,不少动物类药材来源由野生变为人工养殖。但在养殖过程中,有些不法商家为了追求不正当利益,非法过量使用抗生素、雌激素等化学药物,从而造成相关药物残留,

最终可能对人体造成损害。而氯霉素类药物因具有广谱抗菌能力,价格便宜,抑菌效果好,常被广泛用于养殖业。这类药物性质稳定、不易降解,极易造成残留。已有研究证明,长期摄入氯霉素类药物会严重损伤人体造血机能,可引起粒细胞缺乏症、再生障碍性贫血,同时对

- 2119-2121.
- [6] 马金刚,危雪平,王鹏远,等.UPLC法同时测定复方丁香油涂剂中丁香酚和樟脑的含量[J].解放军药学报,2014,30(5):423-427.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:4.

- [8] 刘颖新,刘利利,孔兴欣,等.HPLC法测定香薷散不同煎液中香荆芥酚和麝香草酚的含量及体外抗菌作用比较[J].药物分析杂志,2014,34(6):1006-1010.
- [9] 陈欣,陈鹏.RP-HPLC测定麝香草酚的含量及有关物质[J].华西药学杂志,2012,27(1):102-103.
- [10] 黄家卫,盛振华,张蓓,等.HPLC法测定银黄喷雾剂中麝香草酚及香荆芥酚的含量[J].中华中医药杂志,2011,26(11):2693-2695.

Δ 基金项目:广西壮族自治区食品药品监督管理局科研项目(No.桂食药监科评函[2015]20号)

* 副主任中医师。研究方向:药品质量检验、控制。E-mail:770013802@qq.com

(收稿日期:2017-05-16 修回日期:2017-07-14)

(编辑:刘柳)