

文章编号:1008-1534(2019)05-0357-05

GC-MS/MS法测定金牛眼药、拨云散眼药、 特灵眼药中麝香酮的含量

王晓蕾,袁浩,王常顺,刘永利

(河北省药品检验研究院,河北石家庄 050011)

摘要:为了全面有效地评价眼药的内在质量,针对眼药质量标准中均未设置与人工麝香相关质控指标的现状,研究了GC-MS/MS法测定金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药中麝香酮含量的方法。采用HP-5MS毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),分流进样,分流比为3:1,进样量为1 μL,程序升温,选择电子轰击源(EI源),多反应监测模式(MRM)进行测定,监测离子对及电压为 m/z 238.30>98.10(CE6), m/z 209.20>95.20(CE12), m/z 209.20>109.20(CE9)。结果表明,麝香酮保留时间为10.30 min,线性范围为53.18~1329.6 ng($r=0.9994$),金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药的加样回收率($n=9$)分别为95.2%,95.5%和95.1%,RSD值分别为1.5%,1.9%和1.2%。研究方法简便准确,重复性良好,可用于金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药中人工麝香含量的控制,为全面评价眼药质量提供技术支持。

关键词:中药化学;麝香酮;含量测定;GC-MS/MS法;眼药

中图分类号:R282.5

文献标志码:A

doi: 10.7535/hbgykj.2019yx05011

Determination of muscone in Jinniu eye medicine, Boyunsan eye medicine and Teling eye medicine by using GC-MS/MS

WANG Xiaolei, YUAN Hao, WANG Changshun, LIU Yongli

(Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang, Hebei 050011, China)

Abstract: In order to comprehensively and effectively evaluate the internal quality of eye drops, a GC-MS/MS method is established to determine the content of muscone in Jinniu eye medicine, Boyunsan eye medicine and Teling eye medicine in view of the current situation that no quality control index related to artificial musk is set in the quality standard of eye medicines. HP-5MS capillary column (30 m×0.25 mm×0.25 μm) is used for split injection with a split ratio of 3:1, an injection volume of 1 μL, and programmed temperature. The electron bombardment source (EI source) and the multiple reaction monitoring mode (MRM) are selected. The monitored ions and voltage are: m/z 238.30>98.10 (CE6), m/z 209.20>95.20 (CE12),

收稿日期:2019-05-23;修回日期:2019-07-01;责任编辑:张士莹

基金项目:河北省科技计划项目(17272504D)

第一作者简介:王晓蕾(1985—),女,山西洪洞人,主管药师,硕士,主要从事中药检验方面的研究。

通信作者:刘永利主任药师。E-mail:liuyongli2008@126.com

王晓蕾,袁浩,王常顺,等.GC-MS/MS法测定金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药中麝香酮的含量[J].河北工业科技,2019,36(5):357-361.

WANG Xiaolei, YUAN Hao, WANG Changshun, et al. Determination of muscone in Jinniu eye medicine, Boyunsan eye medicine and Teling eye medicine by using GC-MS/MS[J]. Hebei Journal of Industrial Science and Technology, 2019, 36(5): 357-361.

m/z 209.20 > 109.20 (CE 9). The results show when the retention time of muscone is 10.30 min, the linear range is of 53.18~1 329.6 ng ($r=0.999 4$). The recovery rate ($n=9$) of Jinniu eye medicine, Boyunsan eye medicine and Teling eye medicine are 95.2%, 95.5% and 95.1%, with RSD of 1.5%, 1.9% and 1.2%, respectively. The method is simple, accurate and has good repeatability. It can be used to control the content of artificial musk in Jinniu eye medicine, Boyunsan eye medicine and Teling eye medicine, providing technical support for comprehensive evaluation of the quality of eye medicine.

Keywords: chemistry of Chinese material medica; muscone; determination of content; GC-MS/MS method; eye medicine

金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药为传统眼用制剂,三者的处方中含有大量炉甘石、冰片,且皆含有人工麝香。人工麝香为天然麝香的代用品,以麝香酮为主要成分,其主要药理作用、物理性状与天然麝香相似,具有开窍醒神、活血通经、消肿止痛等功效^[1-7]。金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药的现行质量标准中大多是关于测定处方量较大的冰片的方法^[4],均未设置与人工麝香相关的质控指标,故无法全面控制眼药的内在质量。本研究采用 GC-MS/MS 法测定眼药中麝香酮的含量,以期全面有效地评价药品质量。

1 主要仪器与试剂

1.1 仪器

GCMS-TQ8040 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪,日本岛津公司提供;HP-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),美国 Agilent 公司提供;AE240,AE163 电子天平,Mettler 公司提供;超纯水仪,美国 Millipore 公司提供。

1.2 试剂试剂

正己烷、乙酸乙酯,均为 GC 纯,Merck 公司提供;水,超纯水,美国 Millipore 公司提供;其余试剂均为分析纯。

对照品:麝香酮,中国食品药品检定研究院提供,批号为 110719-201716,标示含量为 99.9% (质量分数,下同)。

1.3 样品

金牛眼药 4 批,批号为 08160301,08160302,08160303,20141201;拨云散眼药 4 批,批号为 8160701,8160702,8160703,20140902;特灵眼药 3 批,批号为 8160701,8160702,8160703。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

取麝香酮对照品适量,精密称定,加乙酸乙酯制成每 1 mL 含麝香酮 500 ng 的溶液,摇匀,即得对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取样品 0.1 g,加乙酸乙酯 3 mL,涡旋 15 min,离心(4 000 r/min)5 min。精密吸取上清液 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用乙酸乙酯稀释至刻度,微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.3 色谱条件

进样口温度为 200 °C,采用分流进样方式,分流比为 3:1,载气为高纯氦气,恒线速度模式,流速为 2 mL/min,进样量为 1 μL。升温程序如下:初始 100 °C(保持 1 min),以 12 °C/min 升至 200 °C(保持 3 min),再以 20 °C/min 升至 280 °C(保持 8 min)。

2.4 质谱参考条件

离子源:电子轰击源(EI 源);采集方式:多反应监测模式(MRM);离子源温度:280 °C;质谱传输接口温度:250 °C;碰撞气体:氩气;检测器电压:0.7 kV;溶剂延迟时间:2.0 min。监测离子对及电压: m/z 238.30 > 98.10 (CE6), m/z 209.20 > 95.20 (CE 12), m/z 209.20 > 109.20 (CE 9)。采集时间为 10.01~10.61 min。在上述条件下测得的图谱如图 1 所示。

2.5 线性关系考察

精密量取麝香酮对照品溶液适量,加入乙酸乙酯,稀释成系列对照品溶液,质量浓度分别为 53.18, 106.37, 265.92, 531.84, 1 329.6 ng/mL。按拟定的色谱条件进行测定,以对照品进样量 X 为横坐标,峰面积积分值 Y 为纵坐标,绘制标准曲线。结果表明,麝香酮量在 53.18~1 329.6 ng/mL 之间呈现良好的线性关系,回归方程为 $Y=461.4X-7 422.1$ ($r=0.999 4$)。

2.6 精密度试验

取同一批样品:金牛眼药(批号为 8160303)、拨云散眼药(批号为 8160701)、特灵眼药(批号为 8160701),分别精密称取 0.05,0.10,0.15 g 各 3 份,按“2.2”项方法制备供试品溶液,进样测定。结果表明,金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药中麝香酮的含量分别为 0.072,0.077 和 0.071 mg/g,RSD 值分别为 2.2%,1.6% 和 2.2%,表明本方法的精密度良好。

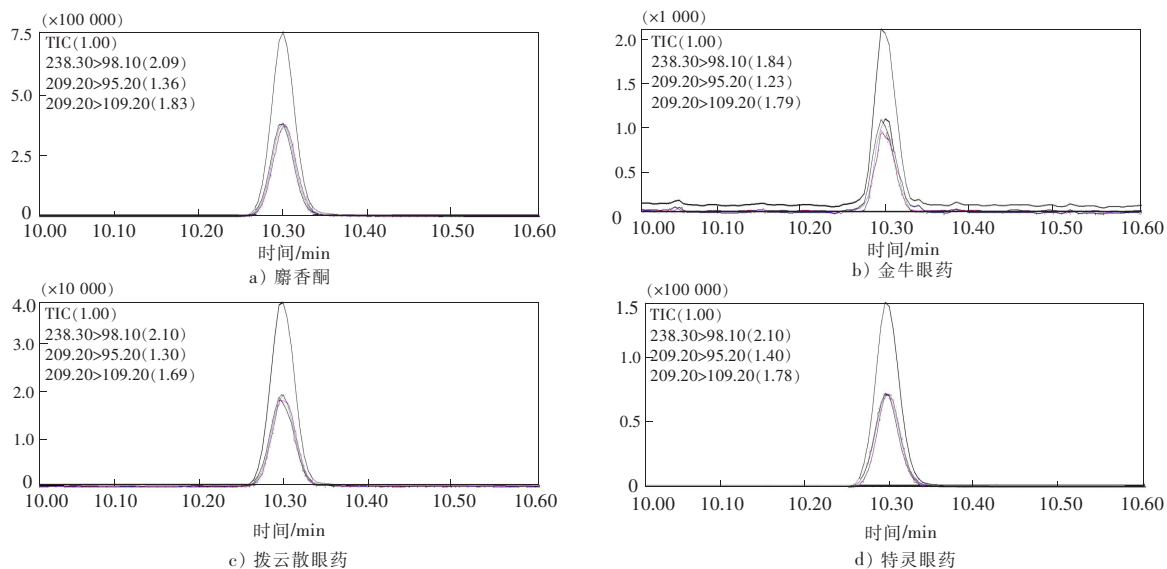


图 1 TIC 图谱

Fig.1 TIC spectrum

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别于 0, 1, 3, 7, 20, 24 h 进样测定,记录峰面积积分值。结果表明,金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药的麝香酮峰面积积分值的 RSD 值分别为 1.9%, 1.5% 和 1.9%,表明供试品溶液室温下放置,至少在 24 h 内是稳定的。

2.8 准确度试验

取已知含量的金牛眼药(批号为 8160303)、拨云散眼药(批号为 8160701)、特灵眼药(批号为

8160701),各精密称取 9 份,每份约 0.05 g,每 3 份为 1 组,分别精密加入用乙酸乙酯配制的低、中、高 3 个浓度的麝香酮对照品溶液 3 mL,按“2.2”项方法制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果表明,金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药的回收率分别为 95.20%, 95.50% 和 95.10%, RSD 值分别为 1.5%, 1.9% 和 1.2%,表明本方法的回收率良好。详见表 1—表 3。

表 1 金牛眼药回收率试验结果

Tab.1 Recovery rate of Jinniu eye medicine

| 编号 | 称样量/g | 样含量/ μg | 加入量/ μg | 实测量/ μg | 回收率/% | 回收率平均值/% | RSD 值/% |
|----|----------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|----------|---------|
| 1 | 0.050 81 | 3.658 3 | 1.85 | 5.483 | 98.63 | | |
| 2 | 0.050 75 | 3.654 0 | 1.85 | 5.414 | 95.14 | | |
| 3 | 0.050 97 | 3.669 8 | 1.85 | 5.428 | 95.04 | | |
| 4 | 0.051 32 | 3.695 0 | 3.70 | 7.221 | 95.30 | | |
| 5 | 0.052 01 | 3.744 7 | 3.70 | 7.261 | 95.03 | 95.20 | 1.5 |
| 6 | 0.051 61 | 3.715 9 | 3.70 | 7.196 | 94.06 | | |
| 7 | 0.051 49 | 3.707 3 | 5.55 | 8.981 | 95.02 | | |
| 8 | 0.050 18 | 3.613 0 | 5.55 | 8.836 | 94.11 | | |
| 9 | 0.051 25 | 3.690 0 | 5.55 | 8.957 | 94.90 | | |

表 2 拨云散眼药回收率试验结果

Tab.2 Recovery rate of Boyunsan eye medicine

| 编号 | 称样量/g | 样含量/ μg | 加入量/ μg | 实测量/ μg | 回收率/% | 回收率平均值/% | RSD 值/% |
|----|----------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|----------|---------|
| 1 | 0.050 75 | 3.907 8 | 1.85 | 5.754 | 99.80 | | |
| 2 | 0.051 12 | 3.936 2 | 1.85 | 5.714 | 96.10 | | |
| 3 | 0.051 31 | 3.950 9 | 1.85 | 5.709 | 95.03 | | |
| 4 | 0.051 67 | 3.978 6 | 3.70 | 7.494 | 95.01 | | |
| 5 | 0.051 88 | 3.994 8 | 3.70 | 7.481 | 94.22 | 95.50 | 1.9 |
| 6 | 0.050 39 | 3.880 0 | 3.70 | 7.396 | 95.03 | | |
| 7 | 0.050 54 | 3.891 6 | 5.55 | 9.111 | 94.04 | | |
| 8 | 0.051 74 | 3.984 0 | 5.55 | 9.257 | 95.01 | | |
| 9 | 0.052 11 | 4.012 5 | 5.55 | 9.285 | 95.00 | | |

表3 特灵眼药回收率试验结果

Tab.3 Recovery rate of Teling eye medicine

| 编号 | 称样量/g | 样含量/ μg | 加入量/ μg | 实测量/ μg | 回收率/% | 回收率平均值/% | RSD值/% |
|----|----------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|----------|--------|
| 1 | 0.050 41 | 3.579 1 | 1.85 | 5.337 | 95.02 | | |
| 2 | 0.050 65 | 3.596 2 | 1.85 | 5.405 | 97.78 | | |
| 3 | 0.051 68 | 3.669 3 | 1.85 | 5.427 | 95.01 | | |
| 4 | 0.051 19 | 3.634 5 | 3.70 | 7.151 | 95.04 | | |
| 5 | 0.051 77 | 3.675 7 | 3.70 | 7.192 | 95.04 | 95.10 | 1.2 |
| 6 | 0.052 32 | 3.714 7 | 3.70 | 7.231 | 95.03 | | |
| 7 | 0.052 05 | 3.695 6 | 5.55 | 8.971 | 95.05 | | |
| 8 | 0.051 94 | 3.687 7 | 5.55 | 8.916 | 94.20 | | |
| 9 | 0.050 81 | 3.607 5 | 5.55 | 8.831 | 94.12 | | |

3 样品测定

取金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药样品共 11 批,根据“2.2”项方法制备供试品溶液,按“2.3”和“2.4”项条件进行测定,用外标法计算麝香酮含量,结果见表 4。

表4 样品中麝香酮含量

Tab.4 Contents of muscone in samples

| 名称 | 批号 | 含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ |
|-------|----------|---------------------------------------|
| 金牛眼药 | 08160301 | 0.110 |
| | 08160302 | 0.088 |
| | 08160303 | 0.072 |
| | 20141201 | 0.069 |
| 拨云散眼药 | 8160701 | 0.077 |
| | 8160702 | 0.075 |
| | 8160703 | 0.076 |
| | 20140902 | 0.067 |
| 特灵眼药 | 8160701 | 0.071 |
| | 8160702 | 0.068 |
| | 8160703 | 0.065 |

4 讨论

4.1 方法选择

文献报道中关于麝香酮的检测分析方法很多^[8-14],如高效液相衍生化法、薄层双波长扫描法、气相色谱法等^[15-20],但未见眼用散剂中关于人工麝香含量测定的报道。金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药处方中均含有大量矿物类药、冰片及多味贵细药,其中人工麝香处方量很小,用气相色谱法测定时消耗的样品量较大,且色谱图中杂质较多,尤其是冰片量大,造成色谱图中的干扰大。采用 GC-MS/MS 法,在很大程度上减少了样品的消耗,通过优化升温程序,可保证麝香酮具有良好的峰形和响应性。选

用多反应监测模式进行测定,通过设置监测离子对及采集时间段,避免了杂质的干扰,具有更高的选择性。

4.2 提取方法考察

金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药的处方中均含有大量矿物类药、冰片及多味贵细药,用气相色谱法测定时消耗样品量较大。在选择提取溶剂时考察了极性较小的正己烷、乙酸乙酯两种溶剂,两种溶剂对样品含量的测定基本没有影响,但正己烷提取液易析出晶体,干扰测定结果且不易保存,故最终选用乙酸乙酯作为提取溶剂。采用超声、涡旋两种提取方式对 3 种眼药中麝香酮含量的影响进行了考察,结果表明两种方式相差不大,故选择提取方式为涡旋 15 min。对涡旋 10,15,20 min 的考察结果表明,10 min 时提取的含量略低,而 15 min 和 20 min 时提取的含量基本无差别,为确保提取完全且又能节约资源,选择提取时间为 15 min。

4.3 质谱参数选择

一级质谱全扫描时得到麝香酮的分子离子峰 238.30,在二级质谱扫描时发现其碎片离子的灵敏度较低,故又在一级质谱图中的 223.30 与 209.30 中选择了较高的 209.30,即将失掉 C_2H_5 的结构作为定性离子对的母离子,最终通过二级质谱扫描优化了质谱参数,确定了最终方法中的测定离子对及电压。

5 结论

金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药处方中均含有多味名贵药材,用气相色谱法测定时样品的消耗量较大。本文探索了一种采用 GC-MS/MS 测定金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药中麝香酮含量的方法,选用多反应监测模式进行测定,通过设置监测离子

对及采集时间段,避免了杂质的干扰,具有更高的选择性,且通过了方法学验证。研究方法可同时应用于金牛眼药、拨云散眼药、特灵眼药中人工麝香的质量控制,为全面控制药品质量提供了技术支持。

鉴于本方法在研究过程中收集到的样品数量较少,后期将继续收集不同批次的样品进行深入研究,对方剂中的其他味药进行相应研究,以获取更多统计数据,为全面评价眼药质量提供技术支持。

参考文献/References:

- [1] 梁颖,汪小根.GC-MS法初步分析天然麝香与人工麝香[J].中药新药与临床药理,2005,16(3):204-205.
- [2] 王岚,王翰,刘海萍,等.麝香的研究现状[J].资源开发与市场,2016,32(1):77-81.
- [3] 冯巧巧,刘军田.麝香酮药理作用研究进展[J].食品与药品,2015,17(3):212-214.
FENG Qiaoqiao, LIU Juntian Progress on pharmacological activity of muscone[J].Food and Drug,2015,17(3):212-214.
- [4] 张彤.GC测定金牛眼药中冰片的含量[J].世界最新医学信息文摘,2015,15(28):104.
ZHANG Tong. Testing borneol contents in Taurus eye drops by GC [J]. World Latest Medicine Information, 2015, 15 (28):104.
- [5] 蒋且英,罗云,谭婷,等.气质联用和化学计量学比较不同品种和产地麝香挥发性成分组成[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(3):49-55.
JIANG Qieying, LUO Yun, TAN Ting, et al. Comparison of volatile chemical compositions of moschus from differentspecies and producing areas by GC-MS and chemometric analysis [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae,2018,24(3):49-55.
- [6] 胡罕,车利锋,张洪峰,等.三种干燥方式下天然麝香中麝香酮含量的测定[J].特产研究,2017,3(9):43-44.
- [7] 李菊,方祥,谢建军,等.气相色谱-质谱联用法快速检测乳类化妆品中6种合成麝香[J].食品安全质量检测学报,2017,8(9):3513-3518.
LI Ju, FANG Xiang, XIE Jianjun, et al. Rapid determination of 6 kinds of artificial musk in cosmetics by gas chromatography-mass spectrometry[J].Journal of Food Safety and Quality,2017,8(9):3513-3518.
- [8] 吴超,李峰,朱晓静,等.气相色谱法测定西黄滴丸中麝香酮和乙酸辛酯的含量[J].山东中医杂志,2014,33(7):578-580.
- [9] 刘明颖,谢媛媛,刘军锋,等.GC法测定复方麝香注射液6种挥发性成分[J].中成药,2014,36(4):749-752.
LIU Mingying, XIE Yuanyuan, LIU Junfeng, et al. GC method for determination of six kinds of volatile components in Fufangshexiang injection [J]. Chinese Traditional Patent Medicine,2014,36(4):749-752.
- [10] 蒋艳玲,袁卫梅,李宇翠.薄层扫描法测定麝香保心丸中麝香酮的含量[J].河南中医药学刊,2002,17(4):21.
- [11] 张幸国,赵青威.薄层扫描法测定小金胶囊中麝香酮的含量[J].中国中药杂志,2006,31(16):1371-1372.
- [12] 金芬,熊富良,熊登科,等.加味西黄软胶囊中胆酸、麝香酮的含量测定[J].中成药,2010,32(3):429-432.
JIN Fen, XIONG Fuliang, XIONG Dengke, et al. Determination of cholic acid and muscone in Jiaweixihuang soft capsule[J].Chinese Traditional Patent Medicine, 2010,32(3):429-432.
- [13] 罗云,杨明,廖正根,等.麝香及其代用品人工麝香质量评价方法研究进展[J].药物分析杂志,2017,37(1):13-19.
LUO Yun, YANG Ming, LIAO Zhenggen, et al. Research progresses on quality evaluation methods for musk and its alternative[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2017,37(1):13-19.
- [14] 李建晨,廖明丽,贾玉捷,等.双黄连口服液液中绿原酸含量的影响因素研究[J].河北科技大学学报,2015,36(5):499-503.
LI Jianchen, LIAO Mingli, JIA Yujie, et al. Study on the influence factors for chlorogenic acid content in Shuanghuanglian oral liquid[J].Journal of Hebei University of Science and Technology,2015,36(5):499-503.
- [15] 骆瑞林.麝香酮的含量测定方法研究进展[J].中国药业,2015,24(10):127-128.
- [16] 张朝,刘妍如,史鑫波,等.GC分析不同干燥方法对麝香中麝香酮含量的影响[J].中国现代中药,2017,19(6):849-862.
ZHANG Zhao, LIU Yanru, SHI Xinbo, et al. GC analysis of muscone in musk by different drying methods [J]. Modern Chinese Medicine, 2017,19(6):849-862.
- [17] 魏福祥,邓小丽,陈晓,等.气相色谱法测定莪术挥发油中榄香烯含量[J].河北科技大学学报,2005,26(3):219-221.
WEI Fuxiang, DENG Xiaoli, CHEN Xiao, et al. Determination of element in essential oil from curcuma by GC [J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2005,26(3):219-221.
- [18] 韩春平,席海山,李江,等.GC-MS法同时测定扎冲十三味丸中麝香酮和丁香酚含量[J].中国民族医药杂志,2017,1(1):46-48.
- [19] 方娆莹,张电光,陈锡炎,等.气相色谱法同时测定心宝丸中冰片、桂皮醛、麝香酮的含量[J].今日药学,2015,25(11):758-760.
FANG Raoying, ZHANG Dianguang, CHEN Xiyan, et al. GC determination of synthetic borneol, cinnamaldehyde and muscone in Xinbao pills[J]. Pharmacy Today, 2015,25(11):758-760.
- [20] 倪琳,田向斌,李若绮.气相色谱法测定三黄珍珠膏中麝香酮的含量[J].海峡药学,2018,30(2):59-61.
NI Lin, TIAN Xiangbin, LI Ruoqi, et al. Determination of muscone in Sanhuangzhenzhu cream by GC [J]. Strait Pharmaceutical Journal,2018,30(2):59-61.