

九味防瘟散中麝香酮的含量测定及稳定性研究

翟永松¹, 王大伟², 李鹏跃³, 刘宇^{1,4}, 邵杰², 黄福开^{2*}

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 中国藏学研究中心北京藏医院, 北京 100029;
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 4. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091)

[摘要] 目的: 建立九味防瘟散中麝香酮含量测定方法, 以麝香酮为指标研究该制剂的稳定性。方法: 以 HPLC-MS 法测定麝香酮的含量; 研究九味防瘟散在不同温度和包装条件下的稳定性。结果: 麝香酮浓度在 0.2 ~ 20 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r=0.9999$), 精密度、回收率、稳定性、重复性均符合实验要求。稳定性方面, 去外包装组麝香酮损失速率 > 包装组, 35 °C 时麝香酮损失速率 > 4 °C, 密闭包装组麝香酮损失速率 > 密封包装组。结论: HPLC-MS 法测定九味防瘟散中的麝香酮含量灵敏、快捷、简便、准确。九味防瘟散须在冷处密封条件下保存。

[关键词] 九味防瘟散; 麝香酮; 高效液相色谱-质谱; 稳定性

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0128-03

[doi] 10.11653/syfy2013100128

Determination and Stability of Muscone in Jiuwei Fangwensan

ZHAI Yong-song¹, WANG Da-wei², LI Peng-yue³, LIU Yu^{1,4}, SHAO Jie², HUANG Fu-kai^{2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Beijing Tibetan and Ethnic Medicine Hospital, Beijing 100029, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical

Sciences (CACMS), Beijing 100070, China; 4. Xiyuan Hospital CACMS, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the determination methods for muscone in Jiuwei Fangwensan and to study the stability of the formulation. **Method:** Firstly, the HPLC-MS method for muscone in Jiuwei Fangwensan was established. In addition, the effect of temperature and sealed condition on the stability of Jiuwei Fangwensan was evaluated. **Result:** Muscone showed a good linear relationship in the range of 0.2-20 mg·L⁻¹ ($r=0.9999$). Precision, recovery rate, stability, repeatability were in line with the experimental requirements. Stability experiment showed that the loss rate of muscone in group without package was faster than group with package. Meanwhile, the loss rate of muscone in 35 °C and well package groups was faster than 4 °C and tightly package groups, respectively. **Conclusion:** The method is sensitive, accurate and could be used in the quality control and the stability study of Jiuwei Fangwensan. Muscone in the formulation is basically stable at 4 °C and tightly packaged condition.

[Key words] Jiuwei Fangwensan; muscone; HPLC-MS; stability experiment

[收稿日期] 20121119(606)

[基金项目] 北京市中医药科技项目(112009-48)

[第一作者] 翟永松, 博士, 讲师, 从事中药药理学研究, Tel: 010-83911635, E-mail: zys_beijing@163.com

[通讯作者] * 黄福开, 教授, 从事中西医结合研究, Tel: 010-64933158, E-mail: shenhaoran2008@sina.com

九味防瘟散源自藏医典籍《四部医典》、《甘露大瓶》, 是预防瘟疫的经典藏药, 应用形式为香囊剂。2003年非典和2009年H1N1甲流期间, 九味防瘟散曾广泛应用, 对于瘟疫的控制起到了一定作用。但该药目前研究较少, 尚无质量控制方面报道。本文以麝香酮作为该制剂的质量控制指标, 建立了HPLC-MS测定麝香酮含量的方法, 并对九味防瘟散中麝香酮的稳定性进行了初步研究。

1 材料

Agilent 6410 型 Triple Quad LC/MS 三重四极杆质谱(电喷雾离子源),Agilent 1200 液相色谱系统(安捷伦 Mass Hunter Workstation 工作站),CP224C 型电子分析天平(奥豪斯仪器有限公司),微量进样器(10 μ L,上海安亭微量进样器厂)。

九味防瘟散(北京藏医院,批号 2012021301、2012021302、2012021303),麝香酮对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0719-200511),环十五烷酮(分析纯,天津化学有限公司),无水乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),乙腈(色谱纯,默克)

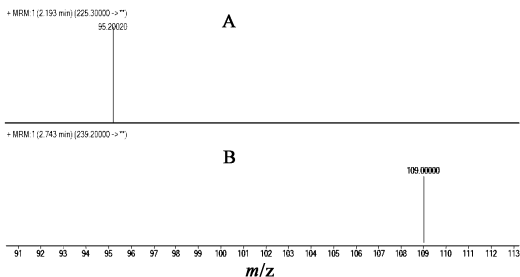
2 方法与结果

2.1 麝香酮含量测定方法

2.1.1 液相条件 Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm, 1.8 μ m),流动相水-乙腈(5:95),流速 0.2 mL \cdot min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}$ C,进样量 2 μ L,终止时间 5 min。

2.1.2 质谱条件 多反应离子检测(MRM),正离子模式;离子源为大气压化学电离源(APCI);气流温度 300 $^{\circ}$ C,毛细管温度 350 $^{\circ}$ C,氮气流速 4 L \cdot min⁻¹,气化温度 420 $^{\circ}$ C,雾化压力 55 psi。

2.1.3 质谱分析 在 APCI 源电离方式下,麝香酮主要生成 m/z 109 的碎片离子峰;内标环十五烷酮主要生成 m/z 95.2 的碎片离子峰,上述碎片离子峰响应最强且比较稳定,见图 1。因而被选作 MRM 定量的产物离子,用于定量分析,见图 2。



A. 环十五烷酮; B. 麝香酮

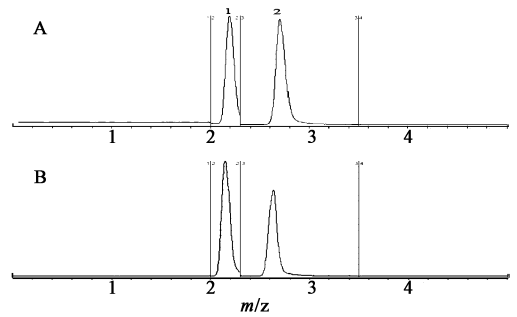
图 1 环十五烷酮和麝香酮的二级质谱碎裂

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取麝香酮对照品 10 mg 于 10 mL 量瓶中,无水乙醇溶解定容,得麝香酮对照品储备液(1 g \cdot L⁻¹)。

2.2.2 内标溶液的制备 精密称取 10 mg 环十五烷酮于 10 mL 量瓶中,无水乙醇溶解定容,得环十五烷酮内标溶液(1 g \cdot L⁻¹)。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取九味防瘟散 0.2 g,加入内标溶液 10 μ L,精密加入无水乙醇



A. 对照品; B. 样品; 1. 环十五烷酮; 2. 麝香酮

图 2 对照品、样品中环十五烷酮和麝香酮 LC-MS

2 mL,称重,密闭,振摇 10 min,放置 1h,无水乙醇补足质量,微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取对照品储备液 0.4, 2, 10, 20, 30, 40 μ L 于 2 mL 的量瓶中,分别加入内标溶液 10 μ L,得系列溶液。按照 2.1.1 条件测定麝香酮含量。以麝香酮峰面积(A_s)/与环十五烷酮峰面积比值(A_i)对麝香酮浓度(C)线性回归,回归方程为 $C = 3.933 (A_s/A_i) - 0.060$ ($r = 0.9999$),麝香酮浓度在 0.2 ~ 20 mg \cdot L⁻¹ 线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 取同一样品溶液,连续进样 6 次,测定麝香酮含量, RSD 1.41%,精密度良好。

2.2.6 重复性试验 平行制备 6 份样品溶液,测定麝香酮含量, RSD 4.17%,重复性复合实验要求。

2.2.7 稳定性试验 取同一份样品溶液分别于 0, 4, 6, 8, 12 h 测定麝香酮含量, RSD 1.76%, 12 h 内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知麝香酮含量的九味防瘟散 6 份,加入对照品溶液适量,按照 2.2.3 项制备溶液,测定麝香酮含量,结果见表 1,加样回收率符合实验要求。

表 1 麝香酮加样回收率试验

No.	样品中含量 / μ g \cdot g ⁻¹	加入量 / μ g	实测量 / μ g	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	23.88	5.00	10.00	104.53		
2	23.88	5.00	9.87	101.93		
3	23.88	5.00	9.55	95.48		
4	23.88	5.00	9.72	98.98	99.67	3.18
5	23.88	5.00	9.66	97.87		
6	23.88	5.00	9.74	99.23		

2.3 九味防瘟散稳定性初步研究

2.3.1 不同温度对九味防瘟散稳定性的影响 取九味防瘟散样品 3 批,市售包装,分别于(35 \pm 2) $^{\circ}$ C 和(4 \pm 2) $^{\circ}$ C 条件下放置,于 0, 5, 15, 20, 30, 60 d 取样,按照 2.1 项下分析方法测定麝香酮含量,结果 4

℃ 时麝香酮的损失速率低于 35 ℃, 见表 2。

表 2 不同温度对九味防瘟散中麝香酮含量的影响

t/d	麝香酮/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
	(35 ± 2) ℃	(4 ± 2) ℃
0	23.88 ± 0.67	23.88 ± 0.67
5	21.01 ± 0.14	23.17 ± 0.14
15	17.91 ± 0.14	22.12 ± 0.12
20	15.73 ± 0.28	21.43 ± 0.10
30	12.53 ± 0.45	20.70 ± 0.34
60	8.31 ± 0.37	19.68 ± 0.35

2.3.2 包装条件对九味防瘟散稳定性的影响

2.3.2.1 是否去除包装对九味防瘟散稳定性的影响 取九味防瘟散样品 3 批, 去除塑料包装, (35 ± 2) ℃ 条件下放置, 于 0, 5, 15, 20, 30, 60 d 取样, 按照 2.1 项下分析方法测定麝香酮含量, 与 2.3.1 项下(35 ± 2) ℃ 麝香酮含量数据比较, 结果去包装组中麝香酮的损失速率快于市售包装组, 60 d 含量仅为初始含量的 4.2%, 见表 3。

表 3 包装对九味防瘟散麝香酮含量的影响 ($n=3$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

时间/d	市售包装组	去包装组
0	23.88 ± 0.67	23.88 ± 0.67
5	21.01 ± 0.14	19.02 ± 0.14
15	17.91 ± 0.14	13.42 ± 0.69
20	15.73 ± 0.28	10.33 ± 0.36
30	12.53 ± 0.45	4.84 ± 0.53
60	8.31 ± 0.37	1.03 ± 0.14

2.3.2.2 不同包装类型对九味防瘟散稳定性的影响 取九味防瘟散样品 3 批, 装入玻璃瓶中, 蜡封, 作为密封包装组, (4 ± 2) ℃ 密闭条件下放置, 于 0, 5, 15, 20, 30, 60 d 取样, 按照 2.1 项下分析方法测定麝香酮含量, 与 2.3.1 项下(4 ± 2) ℃ (作为密封包装组) 麝香酮含量数据比较。结果密封包装组损失速率低于密闭包装组, 4 ℃ 密封包装组麝香酮含量 60 天无明显变化, RSD 1.52%, 见表 4。

表 4 不同包装类型对九味防瘟散麝香酮含量的影响 ($n=3$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

时间/d	密闭包装组	密封包装组
0	23.88 ± 0.67	23.88 ± 0.67
5	23.17 ± 0.14	24.01 ± 0.23
15	22.12 ± 0.12	23.43 ± 0.31
20	21.43 ± 0.10	23.26 ± 0.15
30	20.70 ± 0.34	23.52 ± 0.23
60	19.68 ± 0.35	23.07 ± 0.31

3 讨论与结论

麝香是名贵中药材, 一直为历代医家所重视^[1], 在藏药中也有大量应用。麝香酮是其指标成

分, 作用^[2], 可作为研究九味防瘟散稳定性的指标。药典^[3]及文献中多用 GC 法^[4-6]、GC-MS 法^[7-11]测定麝香酮含量, 也有少量采用 HPLC-MS 法^[12]。麝香在制剂中的含量一般较低且有效成分易挥发^[13]贮存过程中麝香酮含量不断降低, GC 法检测困难, 因此本文选用 HPLC-MS 法测定其含量, 结果证明该法简便易行, 灵敏度高, 重复性好, 回收率复合试验要求。

比较不同包装条件和温度对于九味防瘟散稳定性的影响, 一是为探讨九味防瘟散的有效期和作用时间提供参考, 二是为改进该制剂的包装提供科学依据。结果证明九味防瘟散原有包装不能满足制剂的存贮要求。

【参考文献】

- [1] 夏鑫华, 刘亚敏, 赵光峰, 等. 麝香配伍冰片对大鼠局灶性缺血再灌注损伤的脑保护研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 15(2): 42.
- [2] 陈玉山, 金顺丹, 董万超, 等. 麝鼠香和天然麝香药理活性的比较研究[J]. 中药通报, 1988, 13(5): 46.
- [3] 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, 2010: 361.
- [4] 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.
- [5] 闫宏远, 周建科, 杨更亮, 等. 安宫牛黄胶囊中麝香酮含量测定[J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2004, 24(1): 55.
- [6] 王立强, 王思玲, 苏德森. 醒脑静注射液质量控制研究[J]. 中成药, 2004, 26(4): 289.
- [7] 郭波红, 程怡, 陈文俊. GC-MS 法测定人工麝香缓释片中麝香酮的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(5): 161.
- [8] 陈长功, 安毅, 王新宏, 等. GC-MS 法测定麝香保心丸中龙脑、异龙脑、麝香酮、苯甲酸苄酯的含量[J]. 中成药, 2007, 29(2): 215.
- [9] 张守尧, 王鹏, 张忠义. 固相萃取 GC-MS 法测定通栓醒脑注射液中冰片和麝香酮的含量[J]. 分析测试学报, 2005, 24(2): 104.
- [10] 蔡春, 周克元, 蔡康荣, 等. 麝香风湿油中麝香酮含量的 GC-MS 分析[J]. 中国现代应用药学杂志, 2003, 20(4): 292.
- [11] 杨晓静, 曹越, 孙佳明, 等. GC-MS 法测定血栓心脉宁片中麝香酮的含量[J]. 中国现代中药, 2011, 13(3): 32.
- [12] 张皓冰, 陶奕, 洪筱坤, 等. HPLC-MS 在麝香酮分析中的应用[J]. 中草药, 2002, 33(11): 970.
- [13] 宋洪涛, 郭涛, 秦冬彦, 等. 人工麝香 β 环糊精包合物的稳定性考察[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(9): 673.

[责任编辑 顾雪竹]