

# HPLC法同时测定复方麝香草酚溶液中3种有效成分的含量

陈伟\*,杨珺,杨谨成,周海燕,王宇,李国辉<sup>#</sup>(中国医学科学院肿瘤医院药剂科,北京 100021)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2119-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.35

**摘要** 目的:建立同时测定复方麝香草酚溶液中苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Thermo Hypersil BDS C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水-冰醋酸(40:60:0.02, V/V/V),流速为1 ml/min,检测波长为275 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚检测质量浓度线性范围分别为0.045 2~0.903 0、0.049 2~0.984 4、0.046 4~0.927 0 mg/ml( $r=0.999 9$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率分别为98.40%~108.88%、98.21%~104.07%、96.83%~107.09%,RSD分别为3.26%、1.87%、3.33%( $n=9$ )。结论:该方法简便、准确、特异性好,可用于同时准确测定复方麝香草酚溶液中苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚的含量。

**关键词** 苯甲酸;水杨酸甲酯;麝香草酚;高效液相色谱法;含量测定

## Simultaneous Determination of 3 Effective Ingredients in Compound Thymol Solution by HPLC

CHEN Wei, YANG Jun, YANG Jincheng, ZHOU Haiyan, WANG Yu, LI Guohui(Dept. of Pharmacy, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of benzoic acid, methyl salicylate and thymol in Compound thymol solution. METHODS: HPLC was performed on the column of Thermo Hypersil BDS C<sub>18</sub> with the mobile phase of acetonitrile-water-acetic acid (40:60:0.02, V/V/V) at a flow rate of 1 ml/min, the detection wavelength was 275 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.045 2-0.9030 mg/ml for benzoic acid, 0.0492-0.9844 mg/ml for methyl salicylate and 0.046 4-0.927 0 mg/ml for thymol; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 98.40%-108.88% (RSD=3.26%,  $n=9$ ), 98.21%-104.07% (RSD=1.87%,  $n=9$ ) and 96.83-107.09% (RSD=3.33%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and specific, and accurately determine the contents of benzoic acid, methyl salicylate and thymol in Compound thymol solution.

**KEYWORDS** Benzoic acid; Methyl salicylate; Thymol; HPLC; Content determination

复方麝香草酚溶液是我院特色制剂,临床上用于妇科阴道冲洗,具有很强的杀菌作用,因其疗效显著,受到妇科医师和患者的普遍认可。但是,复方麝香草酚溶液是我院20世纪

70年代研发的特色制剂,其含量分析仍采用滴定方法,且仅测定了复方制剂中的一种活性成分的含量,质量控制方法相对落后。其他成分则主要依赖定性鉴别,没有含量测定方法。

## 参考文献

- [1] 王朝,黄绳武.凝胶剂研究进展[J].医药导报,2010,29(2):223.
- [2] 梁斌,朱丹燕.新型凝胶剂研究进展[J].海峡药学,2012(3):13.
- [3] 卢秋桃,苏玉珠,陈伟兰.联苯苄唑的临床应用与不良反应研究进展[J].中国实用医药,2011,6(28):253.
- [4] 陈晶,顾月清.纳米结构脂质载药系统的研究进展[J].药学进展,2010,34(12):535.
- [5] Zhang T, Chen J, Zhang Y, et al. Characterization and evaluation of nanostructured lipid carrier as a vehicle for oral delivery of etoposide[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 43(3):174.
- [6] 程树仓.姜黄素纳米脂质载体温敏原位凝胶剂的研制[D].济南:山东大学,2013.
- [7] 石丰华.还原和pH双响应性聚氨基酸纳米凝胶的制备及其作为抗肿瘤药物载体的应用[D].长春:东北师范大学,2013.
- [8] 段存贤.环境响应型肝靶向纳米凝胶给药系统研究[D].济南:山东大学,2012.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1 262-1 263.
- [10] 张天虹,徐文,崔升森,等.高效液相色谱法测定联苯苄唑凝胶中联苯苄唑的含量[J].实用药物与临床,2003,6(4):174.
- [11] 吴兵兵.高效液相色谱法测定联苯苄唑凝胶的含量[J].医药导报,2006,25(6):575.
- [12] 江生,张晓松.高效液相色谱法测定联苯苄唑凝胶的含量[J].中国药业,2005,14(5):34.

\*主管药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:010-87788577。  
E-mail: sorros900@126.com

#通信作者:主任药师,教授。研究方向:医院药事管理。电话:  
010-67714970。E-mail: lgh0603@126.com

(收稿日期:2015-06-10 修回日期:2016-04-12)

(编辑:周 箭)

原有的含量分析方法专属性差,操作烦琐,准确性低,有可能导致不合格产品的漏检,影响制剂的质量,也限制了医院特色制剂的进一步发展。为适应国家相关部门对药品质量的要求,加强制剂的质量控制,根据药监局对于医疗机构制剂再注册的要求,本试验建立同时测定复方麝香草酚溶液中3种有效成分含量的高效液相色谱(HPLC)法,以为更好地控制该制剂质量提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

515-717-2487型HPLC仪,包括515二元泵、717自动进样器、1500柱温箱、2487紫外检测器、Empower色谱工作站(美国Waters公司);BP1215型万分之一电子天平(德国Sartorius公司)。

### 1.2 试剂

苯甲酸对照品(批号:100419-201302,纯度:100.0%)、水杨酸甲酯对照品(批号:110707-201112,纯度:99.7%)、麝香草酚(批号:100508-200902,纯度:99.9%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;复方麝香草酚溶液(中国医学科学院肿瘤医院制剂室自制,批号:20140520-1,20140520-2,20140530);乙腈为色谱纯,乙酸为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Thermo Hypersil BDS  $C_{18}$ (150 mm×4.6 mm,5  $\mu$ m);流动相:乙腈-水-冰醋酸(40:60:0.02, V/V/V);流速:1 ml/min;检测波长:275 nm;柱温:30  $^{\circ}$ C;进样量:10  $\mu$ l。按上述色谱条件进样测定,记录色谱,色谱图见图1。在上述色谱条件下,苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚的分离度均>5,理论板数均不低于3000。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别称取水杨酸甲酯、苯甲酸、麝香草酚对照品约0.1 g,精密称定,置于同一100 ml量瓶中,加入乙腈溶解并定容,即得苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚质量浓度分别为0.903 0、0.984 4、0.927 0 mg/ml的混合对照品溶液。取混合对照品溶液加乙腈稀释制成苯甲酸质量浓度分别为0.903 0、0.451 5、0.180 6、0.090 3、0.045 2 mg/ml,水杨酸甲酯质量浓度分别为0.984 4、0.492 2、0.196 9、0.098 4、0.049 2  $\mu$ l/ml,麝香草酚质量浓度分别为0.927 0、0.463 5、0.185 4、0.092 7、0.046 4 mg/ml的系列混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取复方麝香草酚溶液1 ml,置于100 ml量瓶中,加乙腈,溶解并定容,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 精密量取纯化水1 ml,置于100 ml量瓶中,加乙腈定容,摇匀,即得。

### 2.3 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下系列混合对照品溶液10  $\mu$ l,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以对照品的质量浓度(x, mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归。

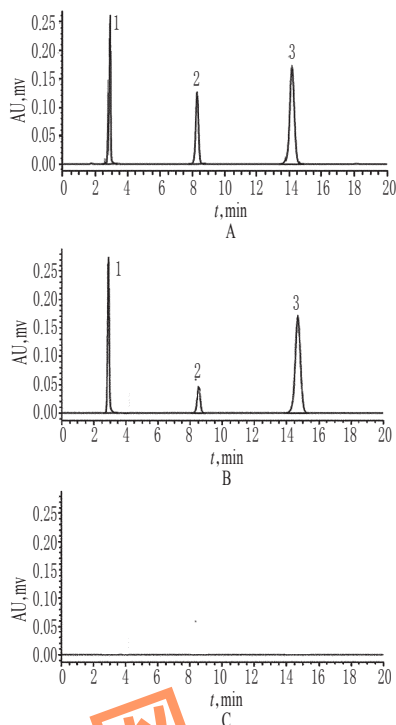


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.阴性样品;1.苯甲酸;2.水杨酸甲酯;3.麝香草酚

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed reference substance; B.test sample; C.negative control; 1.benzoic acid; 2.methylis salicylas; 3.thymol

结果,苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚的回归方程分别为 $y=4.150e^6x-2.038e^7$ 、 $y=3.488e^6x-8.501e^3$ 、 $y=8.335e^6x-2.062e^4$ ( $r$ 均为0.999 9)。结果表明,苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚检测质量浓度线性范围分别为0.045 2~0.903 0、0.049 2~0.984 4、0.046 4~0.927 0 mg/ml。

### 2.4 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下高、中、低3个质量浓度的混合对照品10  $\mu$ l,连续进样5次测定,记录峰面积。结果,苯甲酸进样质量浓度分别为0.903 0、0.451 5、0.090 3 mg/ml, RSD分别为0.69%、0.71%和1.12%( $n=5$ );水杨酸甲酯进样质量浓度分别为0.984 4、0.492 2、0.098 4 mg/ml, RSD分别为0.65%、0.52%和0.88%( $n=5$ );麝香草酚进样质量浓度分别为0.927 0、0.463 5、0.092 7 mg/ml, RSD分别为0.62%、0.54%和0.96%( $n=5$ ),表明本方法精密度良好。

### 2.5 稳定性试验

精密量取同一批样品(批号:20140520-1)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于放置0、0.5、1、1.5、2 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、水杨酸甲酯、麝香草酚峰面积的RSD分别为1.76%、0.79%、0.98%( $n=5$ ),表明供试品溶液2 h内稳定性良好。

### 2.6 重复性试验

精密量取同一批样品(批号:20140520-1)适量,按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液6份,按“2.1”项下色谱条件进

样测定,记录峰面积,并计算含量。结果,苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚峰面积的RSD分别为1.47%、1.53%、1.36%( $n=6$ ),表明本方法重复性较好。

### 2.7 加样回收率试验

精密量取0.1 ml复方麝香草酚溶液(批号:20140520-1)9份,置于100 ml量瓶中,分别加入高、中、低质量浓度的混合对照品溶液,每个质量浓度平行3份,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1。

表1 加样回收率试验结果( $n=9$ )  
Tab 1 Results of recovery test( $n=9$ )

待测成分	取样量, ml	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, %
苯甲酸	0.50	24.15	32.15	33.62	104.57	102.00	3.26
	0.50	24.15	32.15	32.72	101.77		
	0.50	24.15	32.15	32.51	101.12		
	0.50	24.15	22.97	23.12	100.65		
	0.50	24.15	22.97	23.90	104.05		
	0.50	24.15	22.97	25.01	108.88		
	0.50	24.15	13.78	13.56	98.40		
	0.50	24.15	13.78	13.65	99.06		
	0.50	24.15	13.78	13.71	99.49		
水杨酸甲酯	0.50	9.71	13.41	13.70	102.16	100.23	1.87
	0.50	9.71	13.41	13.17	98.21		
	0.50	9.71	13.41	13.35	99.55		
	0.50	9.71	9.58	9.41	98.23		
	0.50	9.71	9.58	9.63	100.52		
	0.50	9.71	9.58	9.97	104.07		
	0.50	9.71	5.75	5.74	99.83		
	0.50	9.71	5.75	5.76	100.17		
	0.50	9.71	5.75	5.71	99.30		
麝香草酚	0.50	24.26	32.38	33.52	103.52	101.00	3.33
	0.50	24.26	32.38	32.06	99.01		
	0.50	24.26	32.38	32.66	100.86		
	0.50	24.26	23.13	23.52	101.69		
	0.50	24.26	23.13	24.02	103.85		
	0.50	24.26	23.13	24.77	107.09		
	0.50	24.26	13.88	13.60	97.98		
	0.50	24.26	13.88	13.63	98.20		
	0.50	24.26	13.88	13.44	96.83		

### 2.8 样品含量测定

取3批复方麝香草酚溶液样品适量,分别按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算水杨酸甲酯、苯甲酸和麝香草酚含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n=6$ )

Tab 2 Results of contents determination of samples( $n=6$ )

样品批号	水杨酸甲酯, $\mu\text{g/ml}$	苯甲酸, $\text{mg/ml}$	麝香草酚, $\text{mg/ml}$
20140520-1	19.41	48.31	48.52
20140520-2	18.38	47.83	48.22
20140530	18.84	48.97	48.04

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

文献报道测定苯甲酸的色谱条件多采用甲醇-水作为流动相<sup>[1-4]</sup>,并且参考了文献中关于HPLC测定麝香草酚含量的报道<sup>[6-10]</sup>。在以甲醇-水作为流动相的色谱条件下,由于甲醇的洗脱能力较小,色谱峰保留时间较长。为提高工作效率,本试验改用乙腈-水作为流动相,乙腈洗脱能力较强,色谱峰保留时

间较短,可以较快地完成含量测定工作。由于考虑到需要同时测定苯甲酸、水杨酸甲酯和避免其他物质的干扰,因此对于流动相的比例做出调整,同时由于使用乙腈-水作为流动相,苯甲酸的色谱峰严重不对称,不利于准确定量。经多次试验条件优化,笔者在流动相中加入冰醋酸来避免药物的解离,以改善峰形,提高分离度,效果良好,操作简便。

### 3.2 医院制剂质量标准亟待提高

目前,受资金和人员的限制,国内医院制剂呈现出逐步减少和萎缩的局面。这主要是由于医院作为一个医疗单位,医院制剂的检验设备简陋,检验方法落后,同时质量标准中设置的检验项目欠合理,导致很多医院制剂的质量标准落后<sup>[11]</sup>,难以满足当前药品监管要求。但是,很多医院制剂在临床使用多年,具有显著的疗效,市场有相似疗效的产品不多,为保障患者健康发挥了重要的作用。因此,对一些疗效确切,以及显著的医院制剂,有必要尽快提高其质量标准<sup>[12]</sup>,以实现对其质量的有效控制。

综上所述,本方法简便、准确、特异性好,可用于同时测定复方麝香草酚溶液中的多种有效成分的含量。

### 参考文献

- [1] 朱爱梅,王四元,曾慧萍,等.HPLC法测定枇杷膏中苯甲酸的含量[J].中药材,2000,23(9):549.
- [2] 张国跃,乔蓉霞,齐化元.HPLC法测定酱油中苯甲酸、山梨酸的含量及六省酱油样品测定结果分析[J].中国医药科学,2011,1(8):37.
- [3] 白林,朱小洁.HPLC法同时测定四种复方制剂中苯甲酸和水杨酸的含量[J].解放军药科学学报,2014,30(1):66.
- [4] 黄力,高从,赖文红,等.HPLC法测定三酸散中苯甲酸和水杨酸的含量[J].解放军药科学学报,2014,30(1):58.
- [5] 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.
- [6] 咎俊峰,刘军峰,何再安,等.高效液相色谱法测定牛至挥发油中麝香草酚的含量[J].湖北中医杂志,2004,26(8):53.
- [7] 孙媛媛,姚宏,林新华,等.HPLC法同时测定Cervitec凝胶剂中醋酸氯己定和麝香草酚含量[J].海峡药学,2007,19(6):43.
- [8] 陈丹,李柯,胡慧冰,等.高效液相色谱法测定显脉旋覆花药材中麝香草酚和异丁酸百里香酯的含量[J].中国民族民间医药,2012,21(21):45.
- [9] 寸时灿.高效液相色谱法测定无极膏中麝香草酚含量[J].中国医院药学杂志,2006,26(9):1167.
- [10] 孙丽娟,刘红兵,许汉林,等.湖北产牛至药材中香荆芥酚和麝香草酚的含量测定[J].中药材,2005,28(7):562.
- [11] 徐红琳.医院药检室现状与现行医院制剂质量标准之我见[J].中国药事,2004,18(7):13.
- [12] 张德根.医院制剂质量标准存在的问题与对策[J].中国药师,2001,14(1):33.

(收稿日期:2015-08-03 修回日期:2016-03-08)

(编辑:刘明伟)