

## · 研究报告 ·

 **$^{19}\text{F}$ 核磁共振定量法测定含氟漱口液中氟化钠的含量**

华俊杰, 朱海菲, 李 育 (海军军医大学药学院 上海 200433)

**[摘要]** 目的 建立 $^{19}\text{F}$ 核磁共振技术测定含氟漱口液中氟化钠含量的方法。方法 采用 $^{19}\text{F}$ 核磁共振技术,以三氟乙酸作为内标物,使用300MHz核磁共振波谱仪,在25℃下采集样品的 $^{19}\text{F}$ 核磁共振谱,建立内标标准曲线,用于氟化钠定量分析。结果 氟化钠在0.1~0.8 mg/ml范围内,线性关系良好,回归方程为 $A = 1.1392C - 0.0013$ , $r = 0.99995$ ;低、中、高3个浓度的平均回收率分别为99.36%、99.31%、99.65%,RSD分别为0.51%、0.35%、0.54%,含氟漱口液中氟化钠的平均含量为99.30%。结论 研究建立的 $^{19}\text{F}$ 核磁共振方法准确度、精密度较好,能够快速、准确地测定含氟漱口液中氟化钠的含量。

**[关键词]**  $^{19}\text{F}$ -NMR; 氟化钠; 含量测定; 定量核磁共振

**[中图分类号]** R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)06-0518-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.06.009

**Determination of sodium fluoride in fluoride-containing mouthwash by $^{19}\text{F}$ -NMR**

HUA Junjie, ZHU Haifei, LI Yu (School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish a method for the determination of sodium fluoride in fluoride-containing mouthwash by  $^{19}\text{F}$ -NMR technique. **Methods** The  $^{19}\text{F}$ -NMR technique was used to establish the relevant standard curve with trifluoroacetic acid as the internal standard. The  $^{19}\text{F}$ -NMR spectrum of the sample was collected at 25 °C using a 300 MHz NMR spectrometer. **Results** The linear relationship of sodium fluoride was good in the range of 0.1 - 0.8 mg/ml. The regression equation was  $A = 1.1392C - 0.0013$ ,  $r = 0.99995$ . The average recovery of low, medium and high concentration levels were 99.36%, 99.31. % and 99.65%, respectively, and RSD was 0.51%, 0.35% and 0.54% respectively. The average content of sodium fluoride in the fluoride mouthwash was 99.30%. **Conclusion** The method was accurate and precise which could be used to determine the sodium fluoride in fluoride-containing mouthwash.

**[Key words]**  $^{19}\text{F}$ -NMR; sodium fluoride; determination of content; standard curve

定量核磁共振(qNMR)是基于信号的积分面积正比于产生信号的质子数的一种绝对定量法,已被包括中国药典、美国药典与欧洲药典收载<sup>[1-3]</sup>。在药物分析方面已得到了广泛的应用<sup>[4-6]</sup>,例如天然产物鉴别<sup>[7]</sup>、药物的质量控制<sup>[8-11]</sup>。这是一种快速、简便、准确的技术,无需对照品,即能获得混合物的定量信息,可对传统色谱技术进行补充和替代。有文献报道, $^{19}\text{F}$ -qNMR可用于辨别含氟药物及其含量检测<sup>[10-13]</sup>,由于药物辅料中大多不含氟,不产生干扰,并有文献表明 $^{19}\text{F}$ -qNMR的准确度与HPLC质量平衡法结果相当<sup>[10]</sup>。

含氟化物漱口水中主要组成为氟化钠,能有效防龋,但摄入过量会导致氟斑牙或氟骨症。因此,对

于含氟漱口液中氟化钠含量测定,对于其质量控制至关重要。目前对于氟化钠的测定主要采用氟离子选择电极法,分光光度法和离子色谱法,存在耗时、试剂昂贵,操作烦琐的问题<sup>[14]</sup>。本实验拟选择 $^{19}\text{F}$ -qNMR测定含氟漱口液中氟化钠的含量,为其质量控制提供必要的技术方法。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

BRUKER AVANCE II300 MHz NMR(Bruker公司)、5mm同轴核磁管535-pp-7(Wilmad公司)、SHIMADZU AUW220D分析天平(0.01 mg, SHIMADZU公司)。

### 1.2 样品及试剂

含氟漱口液(自制)、重水(Cambridge Isotope Laboratories, Ins.)、三氟乙酸(纯度99.5%, Cambridge Isotope Laboratories, Ins.)、纯化水(实验室

**[作者简介]** 华俊杰,本科,Email:hua405893373@163.com

**[通讯作者]** 李 育,硕士,实验师,研究方向:核磁共振,Email:fishleesmmu@126.com

自制)。

## 2 实验方法

### 2.1 溶液配制

含氟漱口液配制:精密称取氟化钠、替硝唑、醋酸氯己定适量,溶于1 000 ml水中,制得氟化钠、替硝唑、醋酸氯己定浓度分别约为0.4、0.2和0.2 mg/ml的含氟漱口液。

氟化钠对照品储备液配制:精密称取氟化钠0.08106 g,置100 ml量瓶中,加入纯化水溶解,并稀释定容至刻度,得浓度为0.8106 mg/ml的氟化钠对照品储备液。

内标物配制:量取氘代三氟乙酸0.1 ml,置10 ml量瓶,用重水稀释,定容至刻度,精密量取220  $\mu$ l置于同轴核磁管外管。

供试品配制:以含氟漱口液作为供试品溶液,精密量取260  $\mu$ l置于同轴核磁管外管,待测。

### 2.2 测定条件与处理

在同轴核磁管外管放入待测样品,插入含三氟乙酸的內管,进行数据采集。采用zgfhigqn.2脉冲序列在恒温(25°C)下获取 $^{19}$ F-NMR谱。具体试验参数设置如下:谱宽(SWH)= $\delta$  90,射频中心频率(O1P)= $\delta$  98,采样点数(TD)=128 K,采样时间(AQ)=2.67 s,采样次数(NS)=32次,空扫次数(DS)=4次,增益(RG)=912。

图谱处理,使用Topspin3.1软件处理采集到的数据,通过软件调整相位并自动校准基线后对信号峰进行积分,设定内标峰积分面积为1.00,记录样品峰积分面积。

## 3 方法学考察

### 3.1 专属性试验

精密量取含氟漱口液供试品260  $\mu$ l,按“2.2”项下检测条件测定 $^{19}$ F-NMR谱,记录信号峰的积分面积。另按含氟漱口液处方,配制不含氟化钠的阴性对照品溶液,同法取样测定,比较阴性对照与供试品的 $^{19}$ F-NMR谱,观察阴性对照品是否出峰。另取稀释1000倍后的三氟醋酸220  $\mu$ l,同法测定,结果显示,供试品的信号峰在 $\delta$  119,处方其他组分无响应信号,对供试品不产生干扰信号;内标的响应信号在 $\delta$  75,供试品与内标的响应信号分离度好,说明本法专属性良好(见图1)。

### 3.2 线性与范围

分别精密量取氟化钠对照品储备液10.0、6.0、4.0、2.0、1.0 ml置10 ml量瓶中,用纯化水稀释并定容至刻度,制成含氟化钠对照品0.8106、0.6080、0.4053、0.2027、0.1013 mg/ml工作曲线系列溶液。分别吸取260  $\mu$ l工作曲线溶液,转移至同轴核磁管外管,按“2.2”项下检测条件进行300 MHz核磁共振检测,记录 $^{19}$ F-NMR谱图,以峰面积A对浓度C(mg/ml)进行线性回归,得线性回归方程:

$$A = 1.1392C - 0.0013, r = 0.99995$$

表明氟化钠在0.1~0.8 mg/ml范围内,线性关系良好。

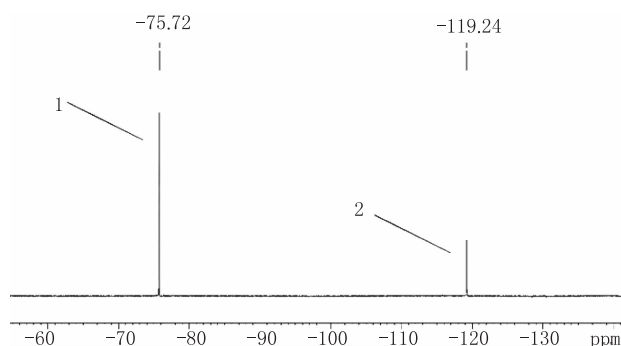


图1 含氟漱口液的 $^{19}$ F-NMR图谱(含三氟乙酸内标)

1. 氘代三氟乙酸信号峰;2. 氟化钠信号峰

### 3.3 重复性试验

分别精密量取供试品溶液260  $\mu$ l 6份,按“2.2”项下进行检测,记录供试品的响应信号面积,按照标准曲线法计算含量,得含氟漱口液中氟化钠含量分别为99.41%、99.27%、99.22%、99.63%、99.00%、99.19%,RSD平均为0.22%,表明该方法重复性良好。

### 3.4 回收率试验

精密称取对照品氟化钠0.10270 g,置100 ml量瓶,加纯化水溶解,稀释并定容至刻度,得浓度为1.0270 mg/ml氟化钠对照品溶液。

精密量取漱口液2.5 ml,置于5 ml容量瓶;随后分别精密量取浓度为1.0270 mg/ml氟化钠对照品液0.8、1.0和1.2 ml,加入上述量瓶中,加纯化水稀释并定容至刻度,制得低、中、高3个浓度的回收率测定溶液,每个浓度平行配制3份,按“2.2”项下进行检测,并计算加样回收率。表1显示低、中、高3个浓度的平均回收率分别为99.36%、99.31%及99.65%,RSD分别为0.51%、0.35%及0.54%,表明该方法测定结果准确度满足要求。

表1  $^{19}\text{F}$ -NMR 测定含氟漱口液中氟化钠含量的加样回收率试验( $n=3$ )

供试品取用量(ml)	供试品中氟化钠量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	加样回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
2.5	1.0140	0.8216	1.8263	98.87	99.36	0.51
2.5	1.0140	0.8216	1.8346	99.88		
2.5	1.0140	0.8216	1.8302	99.35		
2.5	1.0140	1.0270	2.0348	99.39	99.31	0.35
2.5	1.0140	1.0270	2.0299	98.92		
2.5	1.0140	1.0270	2.0370	99.61		
2.5	1.0140	1.2324	2.2424	99.67	99.65	0.54
2.5	1.0140	1.2324	2.2353	99.10		
2.5	1.0140	1.2324	2.2485	100.2		

### 3.5 稳定性试验

取供试品溶液,在0、4、8、12、24 h分别对其进行测定,记录供试品的响应信号面积。结果如表2所示,氟化钠平均峰面积为0.4619, RSD为0.19%,表明供试品在24 h内稳定性良好。

表2  $^{19}\text{F}$ -NMR 测定含氟漱口液中氟化钠含量的稳定性试验

测定时间(h)	信号峰面积	平均值	RSD(%)
0	0.4618	0.4691	0.19
4	0.4629		
8	0.4606		
12	0.4625		
24	0.4615		

### 3.6 氟化钠的含量测定

分别精密量取供试品溶液260  $\mu\text{l}$  5份,按照“2.2”项下方法测定。结果如表3所示,该漱口液中氟化钠的平均含量为99.30%, RSD为0.23%。

表3  $^{19}\text{F}$ -NMR 测定含氟漱口液中氟化钠的含量

序号	氟化钠峰面积	含量(%)	平均含量(%)	RSD(%)
1	0.4613	99.41	99.30	0.23
2	0.4607	99.28		
3	0.4604	99.21		
4	0.4623	99.62		
5	0.4603	99.30		

## 4 结果与讨论

本文所建立的 $^{19}\text{F}$ -NMR定量分析含氟漱口液中氟化钠含量的方法,无需分离提取过程,直接用核磁共振波谱法进行含量检测,具有方便、快捷、准确的特点,解决了传统高效液相色谱法无法检测NaF含量的问题。本文采用标准曲线法可准确地计算出NaF含量,适用于大批量样品分析,能有效排除内标物的浓度与质量对于含量测定的影响。经过方法学考察后,论证了 $^{19}\text{F}$ -NMR定量分析方法具有较好的专属性、线性、精密度、准确度及稳定性,为含氟药物的含量检测拓展了新方法。

### 【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2015年版四部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:441.
- [2] The United States Pharmacopeial Convention. U.S. Pharmacopeia 40-National Formulary 35 [S]. The United States Pharmacopeial Convention. 2017:761.
- [3] European Directorate for the Quality of Medicines & Health-Care. European Pharmacopoeia 9.0 Index [S]. EDQM 2017:54.
- [4] WEBSTER G K, KUMAR S. Expanding the analytical toolbox: pharmaceutical application of quantitative NMR[J]. Anal Chem, 2014, 86(23):11474-11480.
- [5] PAULI G F, CHEN S N, SIMMLER C, et al. Importance of purity evaluation and the potential of quantitative  $^1\text{H}$  NMR as a purity assay[J]. J Med Chem, 2014, 57(22):9220-9231.
- [6] HOLZGRABE U, MALET-MARTINO M. Analytical challenges in drug counterfeiting and falsification-The NMR approach [J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 55(4):679-687.
- [7] SANTOS PIMENTA L P, SCHILTHUIZEN M, VERPOORTE R, et al. Quantitative analysis of amygdalin and prunasin in Prunus serotina Ehrh. using  $^1\text{H}$ -NMR spectroscopy[J]. Phytochem Anal, 2014, 25(2):122-126.
- [8] WEBER M, HELLRIEGEL C, RÜCK A, et al. Using high-performance quantitative NMR (HP-qNMR®) for certifying traceable and highly accurate purity values of organic reference materials with uncertainties  $<0.1\%$  [J]. Accred Qual Assur, 2013, 18(2):91-98.
- [9] BEKIROGLU S, MYRBERG O, OSTMAN K, et al. Validation of a quantitative NMR method for suspected counterfeit products exemplified on determination of benzethonium chloride in grapefruit seed extracts[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 47(4-5):958-961.
- [10] 吴迪, 陈华, 王腾, 等.  $^{19}\text{F}$ 核磁共振定量法测定吉非替尼的含量[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(19):2343-2346.
- [11] 李宏伟, 张红芹, 郝海军. 核磁共振定量法测定恩曲他滨绝对含量[J]. 化学试剂, 2018, 40(8):755~758.
- [12] ZHANG FF, JIANG M H, SUN L L, et al. Quantitative analysis of sitagliptin using the  $^{19}\text{F}$ -NMR method; a universal technique for fluorinated compound detection [J]. Analyst, 2015, 140(1):280-286.
- [13] DO N M, OLIVIER M A, SALISBURY JJ, et al. Application of quantitative  $^{19}\text{F}$  and  $^1\text{H}$  NMR for reaction monitoring and in situ yield determinations for an early stage pharmaceutical candidate[J]. Anal Chem, 2011, 83(22):8766-8771.
- [14] 张卫国, 殷忠, 郭华, 等. 用氟离子选择电极测定牙膏中游离氟的影响因素[J]. 中国地方病学杂志, 2007, 26(6):693-694.

【收稿日期】 2019-04-12 【修回日期】 2019-07-20

【本文编辑】 陈盛新