

顶空气相色谱法测定胡黄连苷 II 原料药中 7 种有机溶剂残留量

汪 斌*, 郑 璐#, 姚仲青, 李 鹏, 薛 明, 陈炜伟(扬子江药业集团中药研究院, 江苏泰州 225321)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)27-3859-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.27.41

摘要 目的:建立测定胡黄连苷 II 原料药中 7 种有机溶剂残留量的方法。方法:采用顶空气相色谱法。色谱柱为以 6% 氰丙基苯基-94% 二甲基聚硅氧烷 (DB-624) 为固定液的毛细管柱,程序升温,进样口温度为 200 ℃,检测器为氢火焰离子化检测器,温度为 250 ℃,氮气流速为 35 ml/min,分流比为 10:1,顶空进样量为 1 ml,顶空加热温度为 85 ℃,平衡时间为 45 min。结果:甲醇、乙醇、乙酸乙酯、甲苯、苯、苯乙烯、二乙烯苯在各自质量浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系(r 为 0.999 6~0.999 9);精密度、稳定性试验的 RSD < 3%;平均加样回收率为 78.0%~104.9%,RSD 分别为 0.65%~2.47% ($n=6$)。结论:该方法专属性强,操作简便快速,结果准确,可用于胡黄连苷 II 原料药中有机溶剂残留量的测定。

关键词 顶空气相色谱法;胡黄连苷 II;有机溶剂;残留量测定

Residual Determination of 7 Organic Solvents in Picroside II Raw Material by Head-space GC

WANG Bin, ZHENG Lu, YAO Zhong-qing, LI Peng, XUE Ming, CHEN Wei-wei (Traditional Chinese Medicine Research Institute, Yangtze River Pharmaceutical Group, Jiangsu Taizhou 225321, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the residual determination of 7 organic solvents in picroside II raw materials. METHODS: Head-space GC was performed on the capillary column of 6% cyanopropyl phenyl-94% dimethyl polysiloxane (DB-624) by temperature programming, the temperature of injector was 200 ℃, temperature of flame ionization detector was 250 ℃, the flow rate of N₂ was 35 ml/min, and split ration was 10:1, headspace sampling was adopted with the volume of 1 ml, the heating temperature of headspace sampling was 85 ℃, heating time was 45 min. RESULTS: The good linear relationship of methanol, ethanol, ethylacetate, methylbenzene, benzene, phenylethylene and divinglbenzene had been obtained ($r=0.999\ 6-0.999\ 9$); RSDs of precision stability test were less than 3%; average recoveries was in the range of 78.0% -104.9% (RSDs were 0.65% -2.47%, $n=6$) respectively. CONCLUSIONS: The method is specific, rapid, simple and accurate, and can be used for the determination of residual organic solvents in picroside II raw materials.

KEYWORDS Head-space GC; Picroside II; Organic solvents; Residual determination

胡黄连苷 II (Picroside II) 是从玄参科多年生植物胡黄连的干燥根茎中分离提纯的环烯醚萜类化合物^[1-2],具有保肝利胆、抗菌抗炎、调节血脂的作用^[3-4]。在胡黄连苷 II 制备过程中,可能会残留一定量的有机溶剂。为保证药品质量和用药

安全,应严格限制制备过程中带入的残留溶剂含量。但目前有关胡黄连苷 II 原料药中有机溶剂残留量的测定尚未有文献报道。为此,笔者根据 2010 版《中国药典》(二部)中关于残留溶剂测定法的指导原则^[5],采用顶空气相色谱法^[6],对胡

- [5] 陈林,陈鸿平,刘友平.抗氧化口服液质量标准研究[J].时珍国医国药,2005,16(2):125.
[6] 叶静,包国荣,曾森.康欣口服液质量标准的改进[J].时珍国医国药,2006,17(10):125.
[7] 陈利,李卿.高效液相色谱法测定健汝美口服液中淫羊藿苷含量[J].中国药业,2006,15(18):26.
[8] 范宁,刘春风,王建明.RP-HPLC法测定还春口服液中淫羊藿苷的含量[J].中医学报,2010,38(3):87.
[9] 黄评贵,喻定开,孙树山,等.HPLC测定抗骨增生口服液淫羊藿苷含量[J].中成药,2003,25(9):774.

- [10] 张桂燕,刘斌,陈广耀.HPLC测定复方芪藿口服液中淫羊藿苷的含量[J].中国中药杂志,2005,30(4):310.
[11] 涂禾,马家骅,郭宏彦,等.HPLC法测定肾王膏中淫羊藿苷的含量[J].中国药房,2014,25(31):2945.
[12] 叶强,王燕.心通口服液中淫羊藿苷的含量测定[J].医药导报,2004,23(9):678.
[13] 李萍.肾气归口服液质量标准的研究[J].现代医药卫生,2009,25(4):508.
[14] 刘俊娥,孔筠.高效液相色谱法测定天蛾补肾口服液中淫羊藿苷的含量[J].山西医科大学学报,2010,41(12):1045.
[15] 巩伟,赵豫,赵庆华,等.十一味参龙口服液的质量标准研究[J].中国药房,2014,25(35):3323.

* 助理研究员,硕士。研究方向:中药质量标准。电话:025-58616112。E-mail:liuxing0229@163.com

通信作者:研究员级高级工程师,博士。研究方向:天然药物化学。电话:021-68128999-5000。E-mail:lucyzheng17@163.com

(收稿日期:2014-10-30 修回日期:2015-01-05)
(编辑:余庆华)

黄连苷 II 原料药中有机溶剂残留量进行了系统分析,建立了同时测定胡黄连苷 II 原料药中甲醇、乙醇、乙酸乙酯、苯、甲苯、苯乙烯和二乙烯苯 7 种溶剂量残留的方法。

1 材料

7890B 型气相色谱仪,包括 7697A 型自动顶空进样器(美国 Agilent 公司);GWA-UN2-C30 型超纯水器(北京普析通用仪器有限责任公司);XS205Dual Range 十万分之一分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);KH-700DB 型数控超声仪(昆山禾创超声仪器有限公司)。

胡黄连苷 II (扬子江药业集团有限公司,批号:20140405-1、20140405-2、20140405-3,纯度均 >96%);甲醇、乙醇、乙酸乙酯、甲苯、苯、苯乙烯、二乙烯苯对照品(纯度均 >99.5%),N-N 二甲基甲酰胺(DMF)均购至国药集团化学试剂有限公司均为色谱纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:以 6% 氰丙基苯-94% 二甲基硅氧烷(DB-624)为固定液的毛细管柱(30 m×0.32 mm,1.80 μm);程序升温:初始温度 40 °C,保持 10 min,以 10 °C/min 升温至 220 °C,保持 10 min;进样口温度:200 °C;检测器:氢火焰离子化检测器(FID);温度:250 °C;载气:高纯氮气;载气流速:35 ml/min;分流比:10:1;顶空加热温度:85 °C;平衡时间:45 min;顶空瓶装样量:5 ml;进样量:1 ml。

2.2 溶液的制备

2.2.1 空白溶液 精密量取 50%DMF 5 ml,置于 20 ml 顶空瓶中,加盖密封,作为空白溶液。

2.2.2 对照品贮备液 取甲醇对照品 300 mg、乙醇对照品 500 mg、乙酸乙酯对照品 500 mg、甲苯对照品 90 mg,分别置于 10 ml 量瓶中,加入 50%DMF 溶解并定容,得甲醇、乙醇、乙酸乙酯、甲苯对照品贮备液;精密称取苯 10 mg,置于 10 ml 量瓶中,加入 50%DMF 溶解并定容,精密量取 1 ml,置于 50 ml 量瓶中,加入 50%DMF 溶解并定容,得苯对照品贮备液;精密称取苯乙烯、二乙烯苯各 20 mg,分别置于 10 ml 量瓶中,加入 50%DMF 溶解并定容,分别精密量取 1 ml,置于 10 ml 量瓶中,加入 50%DMF 溶解并定容,得苯乙烯、二乙烯苯对照品贮备液。

2.2.3 混合对照品溶液 分别精密量取上述对照品贮备液 1 ml,置于同一 100 ml 量瓶中,加入 50%DMF 溶解并定容,摇匀,精密量取 5 ml,置于 20 ml 顶空进样瓶中,作为混合对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液 精密称取胡黄连苷 II 0.25 g,置于顶空进样瓶中,精密加入 50%DMF 5 ml,加盖密封,超声(功率:100 W,频率:40 kHz)处理 5 min,即得。

2.3 专属性试验

取“2.2”项下空白溶液、混合对照品溶液及供试品溶液各适量,按“2.1”项下气相色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 1。结果表明,空白溶液中的杂质峰对测定无干扰。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.2”项下各对照品贮备液各 1 ml,置于同一 25 ml 量瓶中,加入 50%DMF 溶解并定容,摇匀,作为混合对照品贮备液。分别精密量取混合对照品贮备液 0.50、0.75、1.00、1.50、1.75、2.00 ml,置于 10 ml 量瓶中,分别加入 50%DMF 溶解并定容;分别精密量取 5 ml,置于顶空进样瓶中,按

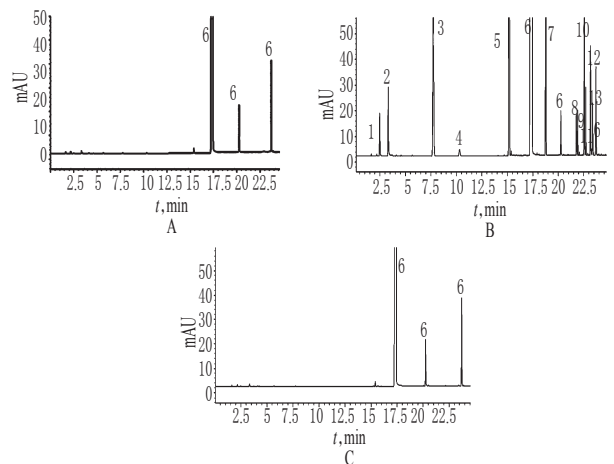


图 1 气相色谱图

A.空白溶液;B.对照品溶液;C.供试品溶液;1.甲醇;2.乙醇;3.乙酸乙酯;4.苯;5.甲苯;6.DMF 溶液;7.苯乙烯;8~13.二乙烯苯

Fig 1 GC chromatograms

A.blank solution; B.reference solution; C.test sample solution; 1. methanol; 2. ethanol; 3. ethyl acenitrile; 4. benzene; 5. methylbenzene; 6. DMF solution; 7. phenylethylene; 8-13. divinylbenzene

“2.1”项下气相色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程及线性范围详见表 1。

表 1 回归方程及线性范围

Tab 1 Regressive equations and linear ranges

待测成分	回归方程	线性范围, $\mu\text{g/ml}$	r
甲醇	$y=1\ 258.7x-1.615\ 7$	63.00~250.00	0.999 8
乙醇	$y=1\ 887.5x-23.592$	103.00~409.00	0.999 8
乙酸乙酯	$y=10\ 669x+9.067\ 3$	101.00~403.00	0.999 9
苯	$y=46.923x+0.243\ 2$	0.04~0.16	0.999 7
甲苯	$y=47\ 469x-12.88\ 2$	20.90~83.60	0.999 8
苯乙烯	$y=19.619x+2.537$	0.58~2.33	0.999 6
二乙烯苯	$y=8.881\ 8x+0.162\ 2$	0.63~2.51	0.999 7

2.5 检测限及定量限^[9]

以信噪比为 3 计算甲醇、乙醇、乙酸乙酯、苯、甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的检测限分别为 0.05、1.12、0.02、12.62、5.16、1.40、450.00 ng/ml;以信噪比为 10 计算甲醇、乙醇、乙酸乙酯、苯、甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的定量限分别为 0.16、4.30、0.07、37.00、18.30、4.39、550.00 ng/ml。

2.6 精密度试验

按“2.4”项下方法制备甲醇、乙醇、乙酸乙酯、甲苯质量浓度分别为 0.188、0.307、0.302、0.062 7 mg/ml,苯、苯乙烯、二乙烯苯质量浓度分别为 0.118、1.745、1.880 $\mu\text{g/ml}$ 的混合对照品溶液,按“2.1”项下气相色谱条件进样测定 6 次,记录峰面积。结果,各成分峰面积的 RSD 均小于 3% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密吸取“2.2.4”项下供试品溶液(批号:20140405-1)适量,于室温(25 °C)下放置 0、2、4、6、8、10 h 时按“2.1”项下气相色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,各成分峰面积的 RSD 均小于 3% ($n=6$),表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.8 重复性试验

精密称取胡黄连苷 II (批号:20140405-1)适量,按“2.2.4”

项下方法制备供试品溶液6份,再按“2.1”项下气相色谱条件进行测定,记录峰面积。结果,各成分均未检出,表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取样品(批号:20140405-1)6份,每份约0.25 g,置于各顶空进样瓶中。另按“2.2.2”项下方法制备相当于各对照品质浓度的100%的标准溶液,分别取该标准溶液5 ml加入盛有样品的顶空进样瓶中,再按“2.1”项下气相色谱条件进样,计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery rate(n=6)

待测成分	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
甲醇	749.9	769.7	102.6	104.9	1.19
	749.9	783.2	104.4		
	749.9	787.6	105.0		
	749.9	790.0	105.3		
	749.9	790.6	105.4		
	749.9	797.3	106.3		
乙醇	1250.0	1260.9	100.9	103.0	1.04
	1250.0	1296.6	103.7		
	1250.0	1288.1	103.0		
	1250.0	1296.0	103.7		
	1250.0	1289.9	103.2		
	1250.0	1291.9	103.4		
乙酸乙酯	1249.1	1088.5	87.1	87.5	0.65
	1249.1	1089.6	87.2		
	1249.1	1104.1	88.4		
	1249.1	1096.8	87.8		
	1249.1	1096.8	87.8		
	1249.1	1084.8	86.8		
苯	0.499	0.448	89.8	89.5	2.47
	0.499	0.427	85.6		
	0.499	0.454	91.0		
	0.499	0.443	88.8		
	0.499	0.448	89.8		
	0.499	0.459	92.0		
甲苯	111.5	94.7	84.9	86.3	1.53
	111.5	94.8	85.0		
	111.5	96.2	86.3		
	111.5	96.1	86.2		
	111.5	98.7	88.5		
	111.5	96.8	86.8		
苯乙烯	5.005	3.955	79.0	78.0	1.75
	5.005	3.758	75.6		
	5.005	3.954	79.0		
	5.005	3.937	78.7		
	5.005	3.859	77.1		
	5.005	3.937	78.7		
二乙烯苯	5.010	4.694	93.7	91.9	1.91
	5.010	4.610	92.0		
	5.010	4.497	89.8		
	5.010	4.666	93.1		
	5.010	4.666	93.1		
	5.010	4.497	89.8		

2.10 样品中有机溶剂残留量的测定

取3批样品(20140405-1、20140405-2、20140405-3)各适量,按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下气相色谱

条件进样测定,以外标一点定量法计算有机溶剂残留量。结果,3批样品均未检出。

3 讨论

3.1 检测指标的确立

胡黄连苷Ⅱ原料药在分离和纯化过程中均使用了HPD-100型大孔吸附树脂及有机溶剂甲醇、乙醇、乙酸乙酯,从用药的安全性考虑,本试验对大孔树脂可能引入的苯、甲苯、苯乙烯、二乙烯苯及制备纯化过程使用的甲醇、乙醇、乙酸乙酯的残留量进行控制。

3.2 溶剂的选择

胡黄连苷Ⅱ中可能存在的残留溶剂在50%DMF中溶解度较好,且DMF沸点高,对其他峰的干扰较小。故将50%DMF作为本研究的溶剂。

3.3 色谱条件的选择

本试验选择顶空进样的方法,避免了样品中难溶性物质对色谱柱的污染;检测的有机溶剂组分较多,极性差异大,笔者曾选用HP-5毛细管柱测定有机物残留,发现各组分不能达到基线分离,且DMF对测定有干扰;选用DB-624毛细管柱,各组分均能获得较好的分离,峰型较好,且DMF不影响测定。采用程序升温的方式,使7种有机溶剂达到了完全分离,且缩短了分析周期,提高了检测效率。在加样回收率试验中,甲醇、乙醇、乙酸乙酯及苯的沸点较低,甲苯、二乙烯苯沸点较高,加样回收率较高;苯乙烯沸点较高,加样回收率较低,但均符合气相色谱要求^[7-9],且RSD均小于3.5%。

综上所述,该方法专属性强,操作简便快速,结果准确,可用于胡黄连苷Ⅱ原料药有机溶剂残留量的测定。

参考文献

- [1] 何薇,林江涛.中药胡黄连的化学成分和药理作用的研究进展[J].中日友好医院学报,2005,19(6):369.
- [2] 汪豪,吴佳俊,刘戈,等.西藏胡黄连中的环烯醚萜类化学成分[J].中国天然药物,2006,4(1):36.
- [3] Johnson DK, Schillinger KJ, Kwait DM, et al. Inhibition of NADPH oxidase activation in endothelial cells by orthomethoxy substituted catechols[J]. *Endothelium*, 2002, 9(3):191.
- [4] 张雪梅,梁文波.胡黄连的免疫调节和抗炎作用[J].国外医药植物药分册,2001,16(6):266.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录61.
- [6] 谢颖,戴丹,谢春燕.气相色谱法测定丹参酮Ⅱ_A原料药中有机溶剂残留量[J].华西药学杂志,2014,29(1):84.
- [7] 王翰华,倪珍珍,姚彤炜.顶空毛细管气相法测定三七提取物中有机溶剂残留量[J].浙江大学学报:医学版,2007,36(6):598.
- [8] 李涛,盛喜霞,刘继平.顶空采样-毛细管气相色谱法分析绞股蓝提取物中的溶剂残留[J].陕西中医,2013,34(1):74.

(收稿日期:2014-12-04 修回日期:2015-06-03)

(编辑:刘柳)