

毛细管顶空气相色谱法测定肌萎灵冻干粉中有机溶剂的残留量

郑亚杰, 贾继明, 刘兴国, 王贵金, 宋剑(河北以岭医药研究院有限公司, 石家庄 050035)

摘要: 目的 建立肌萎灵冻干粉中 AB-8 型大孔吸附树脂有机溶剂(正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯)残留量的检测方法。方法 采用顶空气相色谱程序升温方法, 以 AT-WAX 毛细管色谱柱分离, 氢火焰离子化检测器检测。结果 8 种大孔吸附树脂残留溶剂分离良好; 在各自线性范围内峰面积和浓度均有良好的线性关系, r 为 0.999 1~0.999 8; 方法精密度良好, RSD 均小于 3%; 样品在 8 h 内稳定; 正己烷检测限为 $0.08 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、苯为 $0.025 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、甲苯为 $0.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、(对、间、邻)二甲苯均为 $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、苯乙烯为 $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、二乙烯苯为 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。结论 本法操作简便、准确可靠, 可用于控制肌萎灵冻干粉中 AB-8 型大孔吸附树脂有机溶剂残留量。

关键词: 肌萎灵冻干粉; 大孔吸附树脂; 残留溶剂; 毛细管顶空气相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)13-1201-03

Determination of Organic Residual Solvents in Jiweiling Freeze-Dry Powder by Capillary Headspace Gas Chromatography

ZHENG Yajie, JIA Jiming, LIU Xingguo, WANG Guijin, SONG Jian(Hebei Yiling Pharmaceutical Institute, Shijiazhuang 050035, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of residual organic solvents from the AB-8 macroporous adsorption resin in Jiweiling freeze-dry powder, including *n*-hexane, benzene, toluene, 1,2-xylene, 1,3-xylene, 1,4-xylene, styrene, divinylbenzene. **METHODS** The residual organic solvents were analyzed by headspace gas chromatography on AT-WAX capillary column, FID detector and by temperature programming. **RESULTS** The eight residual organic solvents were completely separated. There was good linearity in resparatively linear ranges and r was 0.999 1–0.999 8, the RSD of precision was less than 3%, the samples were stable in 8 h, the detection limits were *n*-hexane $0.08 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, benzene $0.025 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, toluene $0.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, (1,2-; 1,3-; 1,4-)xylene $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, styrene $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, divinylbenzene $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. **CONCLUSION** The method is simple and accurate and can be used to detect and control the organic residul solvents from the AB-8 macroporous adsorption resin in Jiweiling freeze-dry powder.

KEY WORDS: Jiweiling freeze-dry powder; macroporous adsorption resin; organic residul solvent; capillary headspace gas chromatography

肌萎灵冻干粉是由人参、淫羊藿等药材经加工制备而成的中药冻干粉剂, 具有治疗运动神经元疾病(肌萎缩侧索硬化、进行性脊肌萎缩、进行性延髓麻痹及原发性侧索硬化)、进行性肌营养不良、先天性肌病等疾病所致的肌肉萎缩及重症肌无力的功效。在分离纯化人参、淫羊藿过程采用了苯乙烯型的 AB-8 型大孔吸附树脂, 按照国家食品药品监督管理局关于大孔吸附树脂残留物检查的规定^[1], 需要对残留溶剂进行检测, 并制定合理的残留限度。

本实验采用毛细管顶空气相色谱法, 同时分离测定了由 AB-8 型大孔吸附树脂带入的 8 种有机溶剂残留物, 对(邻、间、对)二甲苯做到了完全分离, 制定了 8 种残留溶剂的残留限度, 为肌萎灵冻干粉及其中间体, 以及其他使用 AB-8 型大孔吸附树脂进行分离纯化的中药的质量控制提供了依据。

1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪(包括 FID 检测器、7694E 顶空进样器, 美国安捷伦公司); 二乙烯苯(批号: CA12605400); 苯(批号: C10535000); 邻二

基金项目: 国际科技合作计划项目(2008DFA30810); “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09102-140)

作者简介: 郑亚杰, 女, 硕士生, 工程师 Tel: (0311)85901304 E-mail: zhengyj4@126.com *通信作者: 宋剑, 男, 硕士生, 副主任药师 Tel: (0311)85901304 E-mail: songjian@yiling.cn

甲苯(批号: C17945000); 间二甲苯(批号: C17945100); 对二甲苯(批号: C17945200); 苯乙烯(批号: C16982000); 正己烷(批号: C14195500); 以上试剂均为德国 Labor Dr.Ehrensterfer.Gmbh 生产。甲苯(色谱纯, 天津光复精细化工); N, N-二甲基甲酰胺(分析纯, 天津大茂化工)。水为无有机物蒸馏水。肌萎灵冻干粉(河北以岭医药研究院有限公司, 批号: jwl090203, jwl090301, jwl090302)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: AT-WAX 毛细管柱[键合聚乙二醇(PEG)-20 M, 30 m×320 μm, 0.25 μm]; 程序升温方式为柱温 60 ℃, 保持 2 min, 然后以 10 ℃·min⁻¹ 升至 80 ℃, 保持 5 min, 再以 15 ℃·min⁻¹ 升至 150 ℃, 保持 1 min; FID 检测器温度为 240 ℃, 进样口温度为 200 ℃; 载气为氮气, 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 分流进样, 分流比为 10:1; 以水为溶剂, 顶空进样, 顶空平衡温度为 90 ℃, 平衡时间为 20 min; 进样体积为 1.0 mL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备溶液的制备 精密称取正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯各适量, 分别加 N, N-二甲基甲酰胺制成每 1 mL 中含苯 0.20 mg, 正己烷 2.36 mg, 甲苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯各 2.00 mg, 苯乙烯 2.50 mg, 二乙烯苯 1.00 mg 的溶液, 作为各自的对照品贮备溶液。分别精密量取苯、甲苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯的贮备液各 10 mL, 苯乙烯的贮备液 8 mL, 正己烷的贮备液 8.5 mL, 二乙烯苯的贮备液 20 mL, 置同一 100 mL 量瓶中, 加 N, N-二甲基甲酰胺稀释、定容, 即得 8 种被测溶剂的混合对照品贮备液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 0.4 g, 精密称定, 置 10 mL 顶空瓶中, 精密加水 2 mL, 密封瓶口, 振摇使溶解, 即得。

2.2.3 空白溶液的制备 取按本品制备工艺制备的空白全辅料样品 0.4 g, 置 10 mL 顶空瓶中, 精密加水 2 mL, 密封瓶口, 振摇使溶解, 即得。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下制备的混合对照品溶液、供试品溶液和空白溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进行分析, 记录色谱图, 见图 1。

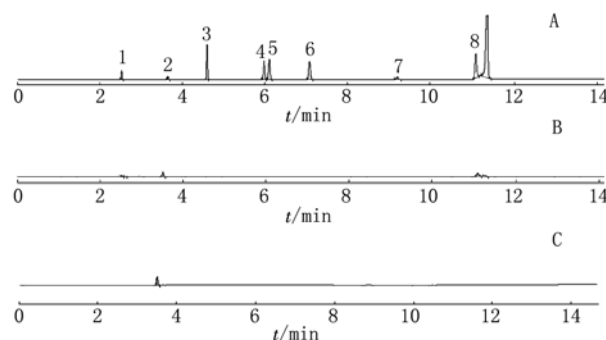


图 1 混合对照品溶液(A)、供试品溶液(B)、空白溶液(C)的色谱图

1-正己烷; 2-苯; 3-甲苯; 4-对二甲苯; 5-间二甲苯; 6-邻二甲苯; 7-苯乙烯; 8-二乙烯苯

Fig 1 Gas chromatograms of reference substances solution(A), sample solution(B), blank(C)

1-*n*-hexane; 2-benzene; 3-toluen; 4-1,4-xylene; 5-1,3-xylene; 6-1,2-xylene; 7-stryene; 8-divinylbenzene

图 1 表明, 8 种被测溶剂色谱峰之间均能基线分离, 分离度均大于 1.5, 按邻二甲苯峰计算, 理论塔板数高于 100 000。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品贮备液 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加 N, N-二甲基甲酰胺稀释至刻度, 制成浓度分别为 1.6, 2.4, 3.2, 4.0, 4.8 μg·mL⁻¹ 的系列混合对照品溶液(其中苯为 0.16, 0.24, 0.32, 0.40, 0.48 μg·mL⁻¹), 分别精密量取 2 mL, 置 10 mL 顶空瓶中, 密封, 按“2.1”项下的色谱条件进样测定, 以峰面积(A)对浓度(C)进行线性回归, 得回归方程, 结果见表 1。

表 1 线性关系考察结果(n=5)

Tab 1 Linear ranges of the organic solvents(n=5)

对照品	回归方程	相关系数/r	线性范围/ μg·mL ⁻¹
正己烷	$A=8.6371C+8.1319$	0.999 8	1.6~4.8
苯	$A=2.8334C+2.9762$	0.999 6	0.16~0.48
甲苯	$A=29.676C+31.031$	0.999 5	1.6~4.8
邻二甲苯	$A=29.196C+32.553$	0.999 1	1.6~4.8
间二甲苯	$A=28.615C+30.401$	0.999 8	1.6~4.8
对二甲苯	$A=25.889C+26.989$	0.999 2	1.6~4.8
苯乙烯	$A=5.1531C+4.6263$	0.999 4	1.6~4.8
二乙烯苯	$A=45.198C+19.446$	0.999 6	1.6~4.8

结果表明, 各被测成分在相应的线性范围内, 峰面积与浓度均有良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.4”项下对照品溶液(浓度为

4.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)2 mL, 置 10 mL 顶空瓶中, 密封, 摇匀, 按“2.1”项下的色谱条件进样测定, 记录各色谱峰面积, 并计算正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、间二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯峰面积的 RSD, 分别为 2.75%, 2.69%, 2.12%, 1.34%, 1.69%, 1.60%, 0.67%, 0.67%, 表明方法精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取本品(批号为 jwl090203)6 份, 各约 0.4 g, 置 10 mL 顶空瓶中, 精密加水 2 mL, 密封瓶口, 振摇使溶解, 按“2.1”项下的色谱条件进样测定, 结果检出本品中二乙烯苯小于 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, RSD 为 1.23%; 未检出正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、间二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯。

2.7 溶液稳定性试验

精密吸取“2.4”项下对照品溶液(浓度为 4.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)6 份, 各 2 mL, 置 10 mL 顶空瓶中, 分别密封、摇匀, 按“2.1”项下的色谱条件, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 进样测定, 记录各溶剂色谱峰面积, 并计算出正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、间二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯峰面积的 RSD 分别为 2.42%, 2.22%, 2.16%, 1.73%, 1.52%, 1.31%, 0.89%, 0.74%。表明试验溶液在 8 h 内稳定。

2.8 检测限

将上述 8 种被测溶剂各自的对照品贮备液逐步稀释, 按“2.1”项下的色谱条件进样测定, 直到其色谱峰高为基线噪声的 2~3 倍止, 结果测得各成分的最低检测浓度分别为正己烷 0.08 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、苯 0.025 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、甲苯 0.04 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、(对、间、邻)二甲苯均为 0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、苯乙烯 0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、二乙烯苯 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.9 样品测定

取样品 3 批(jwl090203, jwl0903101, jwl090302), 按“2.2”项下的方法制备对照品溶液和供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进行分析, 对 8 种残留溶剂进行测定, 结果各批样品中二乙烯苯的残留量均小于 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 苯、甲苯、邻二甲苯、正己烷、间二甲苯、对二甲苯、苯乙烯均未检出。

2.10 限度的制定

按照中国药典 2005 年版二部附录中残留溶剂测定法的有关要求^[2], 结合国家食品药品监督管理局

审评中心关于大孔吸附树脂的补充说明, 制定了本品的树脂残留物限度^[1], 具体限量标准为正己烷、甲苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯均应 $<20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 苯应 $<2\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。供试品如检出与对照品保留时间一致的色谱峰, 其色谱峰面积应小于对照品色谱峰面积。

3 讨论

大孔吸附树脂残留量测定属限量检查, 要求所能测出的树脂残留物不应超过规定限度, 因此对照品溶液的配制须按上述限量标准进行。

对 Agilent DB-624、Agilent HP-1 Methylsiloxane 及 AT-WAX 毛细管气相色谱柱进行了考察, 结果在 DB-624 毛细管柱上, 间二甲苯与对二甲苯有干扰, 邻二甲苯与苯乙烯有干扰, 对升温程序、流速等参数进行优化仍未得到改善; HP-1 毛细管柱不仅间二甲苯与对二甲苯互相干扰难以改善, 且各色谱峰之间分离效果不好; 再对 AT-WAX 毛细管柱进行考察, 发现不仅各色谱峰能获得很好分离, 且峰形对称, 理论塔板数高, 因此最终选用 AT-WAX 毛细管柱。

在选用 AT-WAX 毛细管色谱柱的基础上, 采用程序升温顶空气相色谱法, 8 种被测溶剂均能达到完全分离, 尤其与有关文献^[3-5]相比, 对二甲苯、间二甲苯、邻二甲苯三者分离效果更优。

参考文献

- [1] Center for drug evaluation, SFDA. Purification of Macroporous Minutes Technical Symposium(国家食品药品监督管理局药品审评中心.大孔吸附树脂分离纯化技术专题讨论会会议纪要). <http://www.cde.org.cn/dzkw.do?method=largePage&id=1253>.
- [2] Ch.P(2005)Vol II (中国药典 2005 年版.二部) [S]. 2005: Appendix 54-57.
- [3] JIA C Q, TU P F, LI Y C, et al. Study on the detection of organic residues from macroporous adsorption resin in traditional Chinese medicine products [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2006, 26 (4): 438-442.
- [4] GAO W F, YUAN W J, ZHANG Q M, et al. Headspace GC determination of residual organic solvents and macroporous resin in total notoginsenosides of Panax notoginseng for injection [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2007, 27(3): 460-463.
- [5] ZHAO S J, SHI J P, ZU R Y, et al. Headspace GC determination of macroporous resin residual organic substances in Mailuotong granules [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2009, 29(3): 458-461.

收稿日期: 2010-05-20