

丹酚酸 A 中树脂残留溶剂的测定

车鑫¹, 刘珂^{1*}, 许卉¹, 刘军锋² (1.烟台大学药学院, 山东 烟台 264005; 2. 山东靶点药物研究有限公司, 山东 烟台 264005)

摘要: 目的 建立丹酚酸 A 中树脂残留溶剂正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的测定方法。方法 采用顶空毛细管气相色谱法进行测定, 色谱柱为 HP-1701 毛细管柱; 程序升温, 初始温度为 40 ℃, 保持 3 min 后, 以 8 ℃·min⁻¹ 升温至 140 ℃; FID 检测器。结果 线性关系良好($r>0.999$), 回收率在 96.53%~99.32% 之间。结论 本法简便、准确, 适用于丹酚酸 A 中树脂残留溶剂的测定。

关键词: 丹酚酸 A; 残留溶剂; 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)09-0854-03

Determination of Residues from Macroporous Adsorbing Resins in Salvianolic Acid A

CHE Xin¹, LIU Ke^{1*}, XU Hui¹, LIU Junfeng² (1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. Shandong Target-drug Research Co., Ltd, Yantai 264005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for detecting the residues, including hexane, methylcyclohexane, benzene, toluene, xylene, styrene, diethylbenzene divinylbenzene, from macroporous adsorptions resin in salvianolic acid A. **METHODS** Headspace GC was adopted using an HP-1701 capillary column and hydrogen flame ionization detector. The initial temperature was 40 ℃ maintained for 3 min and then raised (8 ℃·min⁻¹) to 140 ℃. **RESULTS** There was favorable linearity relation between peak area and concentration in the observed concentration range ($r>0.999$). The average recovery was in the range of 96.53%–99.32%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and specific. It can be used for the determination of residues from macroporous adsorbing resins in salvianolic acid A.

KEY WORDS: salvianolic acid A; residues; GC

丹酚酸 A 是丹参中含量较低的水溶性成分之一, 近年研究表明丹酚酸 A 不仅具有保护心脏、肝、脑的作用、抗肿瘤作用^[1], 还有一定的抗糖尿病血管并发症作用^[2], 且有研究表明丹酚酸 A 改善大鼠心肌缺血的作用明显强于丹酚酸 B^[3]。因此丹酚酸 A 极具开发利用价值。

丹酚酸 A 在分离纯化过程中多使用大孔吸附树脂, 根据《大孔吸附树脂分离纯化中药提取液的

技术要求(暂行)》(国家药品监督管理局药管注〔2000〕56 号文)及其补充说明的规定, 必须对药物中的 7 种树脂残留溶剂(正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯)进行检测, 以保证用药安全。因此本试验参考相关文献[4-6]建立了顶空毛细管气相色谱法, 用以检测丹酚酸 A 中的这 7 种树脂残留溶剂。

1 仪器与试药

作者简介: 车鑫, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0535)6706030-8013
Tel: (0535)6372066 E-mail: liuke@target-drug.com

E-mail: chexin-1979@163.com *通信作者: 刘珂, 男, 博士, 教授

Agilent 6890N 气相色谱仪, FID 检测器, Agilent G1888 顶空进样器, HP-1701 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm)。正己烷、二乙烯苯为色谱纯, 其余均为分析纯; 水为娃哈哈纯净水。丹酚酸 A(山东靶点药物研究有限公司, 批号: 080119)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: HP-1701, 柱温: 40 ℃保持 3 min, 以 8 ℃·min⁻¹ 的速率升温至 140 ℃, 载气: N₂, 2 mL·min⁻¹, 进样口温度 220 ℃, 分流进样, 分流比 10:1, 检测器温度 250 ℃, H₂ 流速 40 mL·min⁻¹, 空气流速 450 mL·min⁻¹, 载气+尾吹气流速 40 mL·min⁻¹, 进样 1 mL。顶空平衡温度 70 ℃, 平衡时间 30 min, 定量管温度 80 ℃, 传输管温度 90 ℃。

2.2 对照品溶液的制备

取苯约 10 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 作为溶液①。取正己烷、甲基环己烷、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯各约 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 精密加入溶液①1 mL, 加 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 作为溶液②。精密量取溶液②5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 2 mL, 置顶空进样瓶中, 加盖密封, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取丹酚酸 A 约 1 g, 精密称定, 置顶空进样瓶中, 精密加入 10%DMF 溶液 2 mL, 摇匀, 加盖密封, 即得。

2.4 专属性试验

分别取 10%DMF、对照品溶液、供试品溶液测定, 结果溶剂 10%DMF 在正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯峰位处均无干扰, 供试品溶液亦无干扰峰。见图 1。

2.5 精密度试验

取同一对照品溶液 5 份, 各 2.0 mL, 分置 5 个顶空进样瓶中, 连续测定, 正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的峰面积 RSD 分别为 5.25%, 5.64%, 5.21%, 5.27%, 4.76%, 5.10%, 4.69%。

2.6 线性范围考察

取正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯适量, 精密称定, 用 DMF 溶解并稀释成每 1 mL 含正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯 1 mg、含苯 0.1 mg,

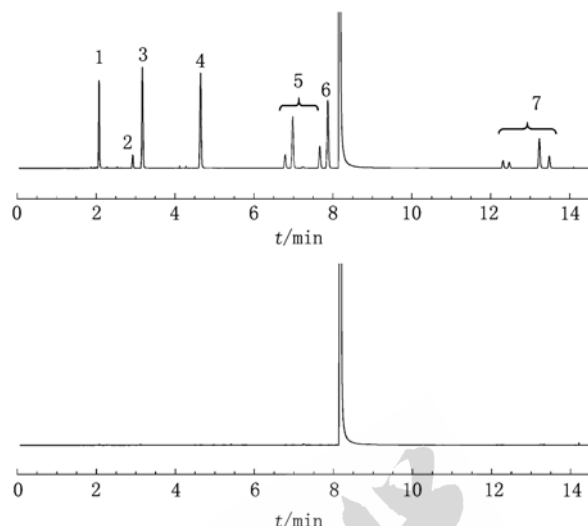


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; 1-正己烷; 2-苯; 3-甲基环己烷; 4-甲苯; 5-二甲苯; 6-苯乙烯; 7-二乙烯苯

Fig 1 HPLC chromatogram

A-control; B-sample; 1-hexane; 2-benzene; 3-methylcyclohexane; 4-toluene; 5-xylene; 6-styrene; 7-diethylbenzene divinylbenzene

作为对照品储备液。分别精密量取对照品储备液 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 再分别精密量取 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取 2 mL, 置顶空进样瓶中, 测定。以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 1。

表 1 标准曲线

Tab 1 The linear regression equation

溶剂	回归方程	r	线性范围/ μg·mL ⁻¹
正己烷	$Y=14.83X-0.072\ 7$	0.999 8	1.836~18.3 6
甲基环己烷	$Y=21.552X+8.251\ 1$	0.999 4	1.745~17.45
苯	$Y=36.432X+4.638\ 2$	0.999 4	0.1891~1.891
甲苯	$Y=32.856X+45.377$	0.999 4	1.945~19.45
二甲苯	$Y=20.951X+29.159$	0.999 3	1.909~19.09
苯乙烯	$Y=27.404X+35.047$	0.999 0	1.836~18.36
二乙烯苯	$Y=12.476X+20.116$	0.999 6	1.745~17.45

2.7 回收率试验

取丹酚酸 A 5 份, 各约 1 g, 精密称定, 置顶空进样瓶中, 分别精密加入对照品溶液 2 mL, 测定, 计算回收率。结果正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的平均回收率和 RSD 分别为 98.91%(5.31%), 97.29%(5.25%), 96.53%(4.95%), 97.82%(5.26%), 98.21%(5.49%), 99.32%(5.28%), 99.01%(5.51%)。

2.8 检测限试验

将对照品溶液逐级稀释至信噪比 2~3, 计算各溶剂的检测限。结果正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的检测限分别为 9.2, 11.7, 1.04, 10.0, 10.3, 9.8, 9.3 ng·mL⁻¹。

2.9 样品测定

按本法测定了 3 批丹酚酸 A, 结果均未检出正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯。

3 讨论

因为要求的树脂残留溶剂限量低, 且样品用量大, 所以本试验采用了顶空进样法, 提高灵敏度同时减少样品对衬管和色谱柱的污染。

比较了 HP-5、HP-1701、VB-624、KB-1 4 种毛细管色谱柱对本实验中 7 种树脂残留溶剂的分离情况, 结果以 HP-1701 的分离度最好、柱效最高, 所以最终选择了 HP-1701 毛细管色谱柱。

丹酚酸 A 在水和 DMF 中均可溶解, 但正己烷、甲基环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯在水中溶解性较差, 所以配制对照品浓溶液时用 DMF 溶解, 稀释时改用水的目的是减少 DMF 用量, 既经济、环保, 又可提高其在顶空气体中的浓度, 减小 K, 提高检测灵敏度, 所以本实验选择 DMF-水的混合液作为溶剂, 并且比较了 1%, 10%, 50% 的 DMF-水溶液中的出峰情况, 最终确定 10% 的 DMF-水溶液更理想。

二甲苯和二乙烯苯在本色谱条件下分别出现 3 个和 4 个色谱峰, 本实验以这两组中峰面积最大的

色谱峰分别代表二甲苯和二乙烯苯。

根据《大孔吸附树脂分离纯化中药提取液的技术要求》及其补充说明之规定, 暂定苯的限量为 2 μg·g⁻¹, 正己烷、甲基环己烷、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的限量为 20 μg·g⁻¹。

样品丹酚酸 A 中并未检测出任何树脂残留溶剂, 说明只要经过适当的处理, 大孔吸附树脂中的致孔剂等添加剂是可以完全去除的。

REFERENCE

- [1] PAN Y F, ZHANG J B, DING J, et al. Pharmacological progress of salvianolic acid A [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol (中国中医药科技), 2008, 15 (4): 294-295.
- [2] YANG X Y. Effects of salvianolic acid A on diabetic vascular complications and the related mechanisms [D]. Beijing: Graduate School of PUMC, 2007.
- [3] SONG Y P, KONG L S, WU J, et al. Comparison of the effect of salvianolic acid A and B on acute myocardial ischemia of rats [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med (中国中医药信息杂志), 2007, 14(9): 36-38.
- [4] SONG J, LIU H L, XUE J. The analysis of the organic residues of the resin in the extract of the radix paeoniae alba [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2007, 18 (10): 2482.
- [5] ZHANG Y B, XU Y F. Determination of residual resin in Baileimin capsules by headspace GC method [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 2004, 18(4): 236-237.
- [6] 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.