

气相色谱法同时测定莲菊感冒胶囊中 16 种有机残留溶剂

刘丽娜¹, 樊燕², 郑林¹, 李勇军¹, 刘童¹, 兰燕宇¹, 王爱民^{1*}

(1. 贵阳医学院药学院、贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004;

2. 贵阳护理职业学院, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立以气相色谱法测定莲菊感冒胶囊中正己烷、苯和甲苯等 16 种残留有机溶剂的方法。方法: 采用内标法直接进样, 色谱柱为 AT-624 大口径毛细管柱(0.53 mm × 30 m, 3 μm), 检测器为 FID, 载气为氮气, 二氯甲烷为溶解介质, 醋酸丁酯为内标。结果: 正己烷、苯、甲苯、乙苯、间二甲苯、苯乙烯、异丙苯、正癸烷、正丁基苯、十一烷、二乙烯苯、十二烷、萘、十三烷、十四烷和十五烷在 1 ~ 32 mg·L⁻¹, 苯在 0.2 ~ 6.4 mg·L⁻¹ 均呈现良好的线性关系($r \geq 0.9984$)。平均回收率在 87.2% ~ 116.9%, RSD ≤ 10% (n = 9)。结论: 该方法简单、准确、灵敏度高, 适用于莲菊感冒胶囊中 16 种残留溶剂的同时检测。

[关键词] 莲菊感冒胶囊; 气相色谱法; 残留溶剂测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0125-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120813.1213.057.html>

[网络出版时间] 2012-08-13 12:13

Simultaneous Determination of Sixteen Kinds of Residual Organic Solvents in Lianju Ganmao Capsule by GC

LIU Li-na¹, FAN Yan², ZHENG Lin¹, LI Yong-jun¹, LIU Tong¹, LAN Yan-yu¹, WANG Ai-min^{1*}

(1. School of Pharmacy, Guiyang Medical University; Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation, Guiyang 550004, China; 2. Nursing Vocational College Guiyang City, Guiyang 550004, China)

[收稿日期] 20120608(001)

[基金项目] 贵州省中药现代化项目(黔科合中药字[2011]5081)

[第一作者] 刘丽娜, 讲师, 硕士, 从事中药质量控制研究, Tel: 0851-6908468, E-mail: gylln815@126.com

[通讯作者] * 王爱民, 教授, 从事中药新药研究及质量分析, Tel: 0851-6908468, E-mail: gywam100@163.com

- [4] 刘杰. 金银花提取物在小鼠体内抑菌及抗炎作用实验研究[J]. 中国现代医药杂志, 2009, 11(3): 127.
- [5] 杨欣, 李洪波, 陈诚. 金银花药性与功效的文献考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 220.
- [6] 高红宁. 微滤-超滤法精制金银花水提液[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 54.
- [7] 蔡清宇, 郝特, 李曼玲, 等. 27 份不同产地金银花质量初步调查[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5): 246.
- [8] 徐多多, 潘志, 高阳, 等. 细菌生物膜模型的建立及注射用双黄连对细菌生物膜形成的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2009, 25(5): 667.
- [9] 杨雪琼, 李美红, 杨亚滨, 等. 二蕊荷莲豆中的两个化合物[J]. 中草药, 2005, 36(6): 808.
- [10] 张卫东, H A. ThiBangTan. 灯盏花中新的酚酸类化合物的结构及活性研究[J]. 药学学报, 2001, 36(5): 360.
- [11] 唐于平, 楼凤昌, 王景华, 等. 银杏叶中黄酮类成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2001, 36(4): 231.
- [12] Recio-Iglesias M, Marston A, Hostettmann K. Xanthenes and secoiridoid glucosides of *Halonia campanulata* [J]. Phytochemistry, 1992, 31(4): 138.
- [13] 贺清辉, 田艳艳, 李会军, 等. 红腺忍冬藤茎中环烯醚萜苷类化合物的研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(9): 656.

[责任编辑 邹晓翠]

[Abstract] Objective: To establish GC method for the determination of sixteen residual organic solvents in Lianju Ganmao capsule. **Method:** The sample was directly injected into AT-624 wide-bore capillary column and analyzed with FID detector using butyl acetate as the internal standard and dichloromethane as the solvent. Nitrogen was used as carrier gas. **Result:** *n*-hexane, toluene, ethylbenzene, *m*-xylene, styrene, cumene, *n*-decane, *n*-butylbenzene, *n*-hendecane, divinylbenze, *n*-dodecane, naphthalene, *n*-tridecane, *n*-tetradecane, *n*-pentadecane showed a good linear relationship over the rang of 1-32 mg · L⁻¹ and Benzene was linear at range of 0.2-6.4 mg · L⁻¹ ($r \geq 0.9984$). The average recovery was in range of 87.2%-116.9%. Each of the relative standard deviations was no more than 10% ($n = 9$). **Conclusion:** The method is convenient, rapid, accurate, high sensitivity and can be used for the simultaneous determination of sixteen residual organic solvents in Lianju Ganmao capsule.

[Key words] Lianju Ganmao capsule; GC; residual organic solvents determination

莲菊感冒胶囊源于民间验方,系以贵州民间习用的地产草药羊耳菊为主要原料,利用现代高新制药技术研制开发治疗感冒的中药胶囊剂,临床基础扎实,地方特色较为显著^[1-2]。由于莲菊感冒胶囊在生产过程中使用了大孔吸附树脂进行精制纯化,其应用的安全性问题尚有争议^[3]。为保证产品的质量和用药安全,根据国家药品审评中心组织召开的“大孔吸附树脂分离纯化技术专题讨论会”会议精神、《中国药典》2010年版二部和 ICH 药品注册的国际技术要求(质量部分)^[4-5]关于药品溶剂残留量的规定,笔者在参考有关文献的基础上^[6-9],采用气相色谱法对莲菊感冒胶囊中大孔树脂残留物烷烃类、苯、甲苯、乙苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯和萘等 16 种有机残留溶剂进行测定,建立了成品中大孔树脂残留物的气相色谱测定方法。

1 仪器与试剂

安捷伦气相色谱仪(GC-7890),氢火焰离子化检测器,6%氰丙基苯基-94%聚二甲基硅氧烷为固定相的 ALLTECH AT-624 大口径石英毛细管柱(0.53 mm × 30 m, 3 μm);高纯氮气和高纯氢气,正己烷、苯、甲苯、醋酸丁酯、二甲基亚砷、二氯甲烷均为分析纯(批号分别为 20100830, 20091103, 20100317, 20100324, 20090811, 20100521),乙苯、间二甲苯、苯乙烯、异丙苯、正癸烷、正丁基苯、十一烷、十二烷、萘、十三烷、十四烷和十五烷色谱标样(批号分别为 20090610, 20100707, 20110314, 20101019, 20090916, 20091204, 20091102, 20100107, 20080925, 20100511, 20090520, 20090819)均购自天津市光复精细化工研究所(含量均大于 99.5%),二乙烯苯异构体混合物[Fluka, mixture of isomers, Lot code: 1084252, Assay 80% (GC)];莲菊感冒胶囊(批号分别为 090302, 090305, 090309)均由贵阳医学院药物

研究开发中心提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 AT-624 大口径毛细管柱(30 m × 0.53 mm, 3 μm);载气为氮气,柱前压 20 kPa,进样口温度 220 °C,程序升温 50 °C 保持 5 min, 8 °C · min⁻¹ 升至 160 °C 保持 5 min,再以 20 °C · min⁻¹ 升至 220 °C 保持 5 min,氢火焰离子化检测器温度 280 °C,氢气流速 40 mL · min⁻¹,空气流速 400 mL · min⁻¹,分流比 1:1,进样量 0.6 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液的制备 精密量取醋酸丁酯 11.6 μL(密度 0.87,约 10 mg),置 10 mL 量瓶中,用二氯甲烷稀释至刻度,摇匀,精密量取该液 2.5 mL,置 250 mL 量瓶中,用二氯甲烷稀释至刻度,摇匀,得每 1 mL 含 10 μg 的内标溶液。

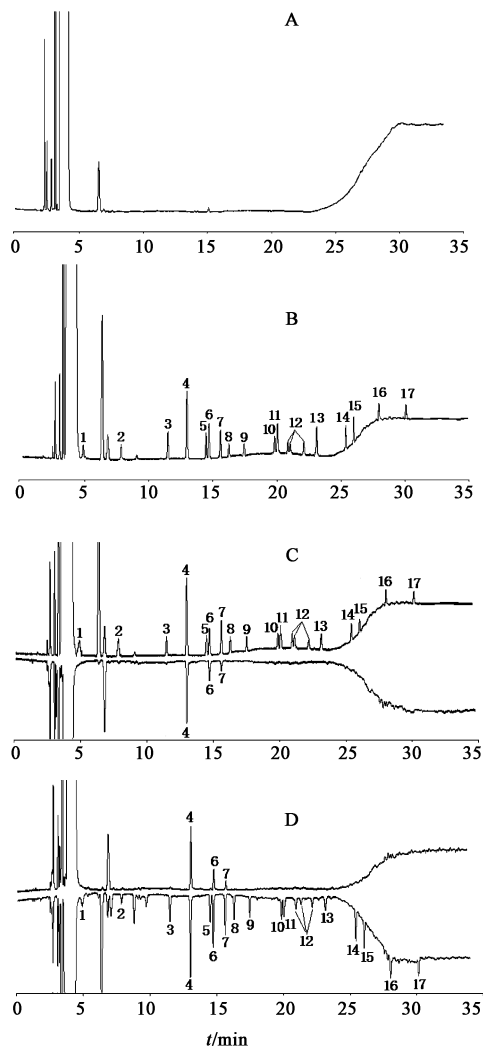
2.2.2 对照品储备液的制备 分别精密量取正己烷、苯、甲苯、乙苯、间二甲苯、苯乙烯、异丙苯、正癸烷、正丁基苯、十一烷、二乙烯基苯、十二烷、萘、十三烷、十四烷、十五烷置 50 mL 量瓶中,用内标液溶解并稀释至刻度,摇匀,分别以密度折算后得每 1 mL 含苯 40 μg,其余每 1 mL 含 200 μg 的混合对照品储备液。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密量取上述储备液 1 mL 置 100 mL 量瓶中,制成每 1 mL 含苯 0.2 μg,其余各 1 μg 的混合溶液,作为对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备 取供试品内容物研细,精密称定约 1 g,置 10 mL 量瓶中,精密加入 2.2.1 项下内标溶液 5 mL,称定质量,密塞,超声处理 10 min,放冷,用二氯甲烷补足减失的质量,摇匀,离心,取上清液作为供试品溶液。

2.3 系统适用性试验 分别量取二氯甲烷、2.2.3 项下混合对照品、2.2.4 项下供试品和供试品中加

入对照品(对照品按苯 $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、其余 $5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 加入供试品中)的溶液各 $0.6 \mu\text{L}$,照 2.1 项下色谱条件测定,记录色谱(图 1)。



A. 二氯甲烷;B. 对照品混合溶液;

C. 对照品和供试品(上:对照品;下:供试品);D. 供试品和供试品加16种对照品(上:供试品;下:供试品加对照品)

1. 正己烷;2. 苯;3. 甲苯;4. 醋酸丁酯;5. 乙苯;6. 间二甲苯;
7. 苯乙烯;8. 异丙苯;9. 正癸烷;10. 正丁基苯;
11. 十一烷;12. 二乙烯苯;13. 十二烷;
14. 萘;15. 十三烷;16. 十四烷;17. 十五烷

图1 莲菊感冒胶囊中16种有机溶剂残留测定GC

2.4 工作曲线的测定 精密吸取 2.2.1 储备液 5 mL 置 10 mL 量瓶中,用内标液稀释至刻度,得对照品中间液,分别精密吸取对照品中间液 $0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 \text{ mL}$,分别置 6 个 10 mL 量瓶中,加内标液稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液。分别取上述系列工作液 $0.6 \mu\text{L}$ 注入气相色谱仪,以溶液中各组分峰与内标峰的峰面积比值为纵坐标,对应组分的质量浓度为横坐标绘制工作曲线,测定结果

见表 1。

表1 回归方程及线性范围

No.	溶剂组分	线性回归方程	r	线性范围 $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1	正己烷	$Y=0.0871X+0.00455$	0.9999	1~32
2	苯	$Y=0.240X+0.0272$	0.9996	0.2~6.4
3	甲苯	$Y=0.215X-0.00439$	0.9996	1~32
4	乙苯	$Y=0.208X+0.0120$	0.9999	1~32
5	间二甲苯	$Y=0.206X+0.0110$	0.9999	1~32
6	苯乙烯	$Y=0.215X+0.0669$	0.9999	1~32
7	异丙苯	$Y=0.199X-0.00343$	0.9999	1~32
8	正癸烷	$Y=0.159X-0.0175$	0.9999	1~32
9	正丁基苯	$Y=0.180X-0.0287$	0.9999	1~32
10	十一烷	$Y=0.155X-0.0261$	0.9999	1~32
11	二乙烯苯	$Y=0.178X-0.00402$	0.9999	1~32
12	十二烷	$Y=0.148X-0.0143$	0.9999	1~32
13	萘	$Y=0.225X-0.0210$	0.9999	1~32
14	十三烷	$Y=0.143X-0.00640$	0.9999	1~32
15	十四烷	$Y=0.128X+0.0303$	0.9994	1~32
16	十五烷	$Y=0.115X+0.0385$	0.9986	1~32

2.5 回收率试验^[5] 取莲菊感冒胶囊样品 1 g ,共 12 份,精密称定,置 10 mL 量瓶中,其中 3 份用内标溶液溶解,作为空白对照液;另 9 份样品分别加入高、中、低 3 个质量浓度(限度 120%、检出浓度、定量限浓度)的对照品溶液 5 mL ,照 2.2.3 项下方法制备溶液,每个浓度溶液制备 3 份。量取上述各溶液 $0.6 \mu\text{L}$,照 2.1 项下色谱条件注入气相色谱仪测定,按内标法计算各溶剂的含量。扣除样品中已知溶剂的残留量,以测得量与加入量计算回收率,结果 16 种有机残留溶剂的平均回收率分别为 116.9%, 90.6%, 89.3%, 87.2%, 94.3%, 89.3%, 90.5%, 96.4%, 89.1%, 88.3%, 115.4%, 87.9%, 90.1%, 108.7%, 96.9%, 92.7%, RSD 在 2.7%~9.8% ($n=9$),符合痕量分析的要求。

2.6 定量限及检出限 取 2.4 项下对照品混合溶液,采用逐步稀释法进样分析,计算组分峰高和噪声的比值(信噪比),以信噪比为 2~3 时为检出限浓度,信噪比为 10 时为定量限浓度,结果见表 2。

2.7 样品测定 照 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,测定不同批次制剂中 D101 大孔吸附树脂的残留溶剂,结果见表 3。

3 讨论

3.1 试验分别以 10%~100% 二甲基亚砜水溶液

表 2 检出限和最低定量限

No.	化合物	最小 定量限 /mg·L ⁻¹	样品中最小 定量限 /μg·g ⁻¹	检出限 /mg·L ⁻¹	样品中 检出限 /μg·g ⁻¹
1	正己烷	1	5	0.25	1.25
2	苯	0.2	1	0.05	0.25
3	甲苯	1	5	0.06	0.3
4	乙苯	1	5	0.06	0.3
5	间二甲苯	1	5	0.06	0.3
6	苯乙烯	1	5	0.06	0.3
7	异丙苯	1	5	0.25	1.25
8	正癸烷	1	5	0.25	1.25
9	正丁基苯	1	5	0.25	1.25
10	十一烷	1	5	0.25	1.25
11	二乙烯苯	1	5	0.5	2.5
12	十二烷	1	5	0.25	1.25
13	萘	1	5	0.25	1.25
14	十三烷	1	5	0.25	1.25
15	十四烷	1	5	0.25	1.25
16	十五烷	1	5	0.25	1.25

表 3 3 批莲菊感冒胶囊中 16 种有机残留溶剂量测定 (n = 2)

No.	溶剂组分	090302	090305	090309
1	正己烷	未检出	未检出	未检出
2	苯	未检出	未检出	未检出
3	甲苯	未检出	未检出	未检出
4	乙苯	未检出	未检出	未检出
5	间二甲苯	2.159 8	1.948 5	2.057 7
6	苯乙烯	0.828 3	0.764 3	0.759 7
7	异丙苯	未检出	未检出	未检出
8	正癸烷	未检出	未检出	未检出
9	正丁基苯	未检出	未检出	未检出
10	十一烷	未检出	未检出	未检出
11	二乙烯苯	未检出	未检出	未检出
12	十二烷	未检出	未检出	未检出
13	萘	未检出	未检出	未检出
14	十三烷	未检出	未检出	未检出
15	十四烷	未检出	未检出	未检出
16	十五烷	未检出	未检出	未检出

等作为溶剂,采用顶空气相色谱法对制剂中大孔树脂残留溶剂进行测定,结果均不能获得较好的回收率,因此采用溶液直接进样法进行测定。同时选择

了甲醇、三氯甲烷、二氯甲烷作为制剂中树脂残留溶剂的提取溶剂,结果甲醇对树脂中有机残留物提取不完全,三氯甲烷含有微量的被测成分干扰测定,二氯甲烷不干扰测定,且提取效果较好,故选择二氯甲烷作为提取溶剂。

3.2 系统适用性试验中溶剂(二氯甲烷)无干扰,各组分峰与内标物分离完全,其中二乙烯苯为异构体的混合物,显示为 3 个色谱峰,故在实际操作中二乙烯苯计为二乙烯苯色谱峰组。

3.3 3 批中试制剂中均含微量的间二甲苯和苯乙烯,其含量限度均低于 10 μg·g⁻¹,参考《中国药典》2010 年版二部附录Ⅷ残留溶剂测定法和 ICH(质量部分)的规定及试验结果,暂定本品每 1 g 含苯残留不得过 2 μg·g⁻¹,含正己烷、甲苯、乙苯、间二甲苯、苯乙烯、异丙苯、正癸烷、正丁基苯、正十一烷、二乙烯基苯、正十二烷、萘、正十三烷、正十四烷、正十五烷残留不得过 10 μg·g⁻¹。

[参考文献]

[1] 何迅,庞秀清,叶兰,等. 莲菊感冒胶囊抗炎解热发汗解表作用[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(10): 810.

[2] 何迅,迟明艳,庞秀清,等. 大孔吸附树脂分离精制莲菊感冒胶囊工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(15): 1262.

[3] 李朝霞,李云谷. 大孔吸附树脂纯化丹参总酚酸的工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(3): 30.

[4] 周海均,金少鸿. 人用药物注册技术规范国际协调会(ICH)-质量的技术要求[J]. 中国药理学杂志, 1996, 31(11): 694.

[5] 宋晓光,朱圣亮,李语如,等. 顶空毛细管气相色谱法同时测定酒石酸布托啡诺中的多种残留溶剂[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 1748.

[6] 樊敏伟,秦晶,何红伟,等. 顶空气相色谱法测定贯叶金丝桃提取物中大孔树脂有机溶剂残留物[J]. 中成药, 2011, 33(10): 1748.

[7] 杨先炯,王永林,王爱民,等. 气相色谱法测定注射用辛芍冻干粉针有机溶剂残留量[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 342.

[8] 何佩雯,赵海誉,杜钢,等. 气相色谱技术在中药农药残留检测中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 126.

[9] 王锦玉,张旭,全燕,等. 天舒滴丸正丁醇去除工艺优选及正丁醇残留量检测[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 15.

[责任编辑 邹晓翠]