

## 顶空气相色谱法测定阿可拉定 (IC162) 中大孔树脂有机溶剂残留物

周福军<sup>1</sup>, 刘振国<sup>2</sup>, 单 淇<sup>1</sup>, 华 洁<sup>1</sup>, 侯文彬<sup>1\*</sup>

1 天津药物研究院, 天津市中药质量控制技术工程实验室, 天津 300193;

2 天津药物研究院药业有限责任公司, 天津 300193

**摘要** **目的:** 建立阿可拉定中 9 种大孔树脂有机溶剂残留物的检测方法。**方法:** 采用顶空进样毛细管气相色谱法, 色谱柱为 HP-INNOWAX 毛细管柱 (30.0 m×0.25 mm×0.25 μm); 柱温 (程序升温): 50 °C 维持 5 min, 以 8 °C/min 的升温速率升温至 220 °C, 再维持 5 min; 进样口温度 250 °C; FID 检测器温度 250 °C; 1% 甲醇的 0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液为溶解介质, 载气为氮气, 体积流量 1.0 mL/min, 测定阿可拉定中正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯基苯、正十二烷 9 种大孔树脂有机溶剂残留量。**结果:** 本法线性关系良好,  $r=0.9907\sim0.9994$ , RSD 均小于 8.3%, 9 种溶剂的平均回收率为 77.1%~105.4%, 其 RSD<6.0%。**结论:** 该方法操作简便快速, 灵敏度高, 准确度好, 可作为阿可拉定中大孔树脂有机溶剂残留量的测定方法。

**关键词** 大孔树脂有机溶剂残留物; 顶空气相色谱法; 阿可拉定

中图分类号: R927.11 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 06-0424-04

## Detection of organic solvent residues of macroporous resin in IC162 by headspace gas chromatography

ZHOU Fu-jun<sup>1</sup>, LIU Zhen-guo<sup>2</sup>, SHAN Qi<sup>1</sup>, HUA Jie<sup>1</sup>, HOU Wen-bin<sup>1</sup>

1 Tianjin Laboratory of Quality Control Technique Engineering for chinese Materia Medica, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2 Pharmaceutical Responsible Co., Ltd., Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract** **Objective:** To establish a method for detecting the nine kinds of organic solvent residues of macroporous resin in IC162. **Methods:** Headspace capillary gas chromatography with HP-INNOWAX column (30.0 m × 0.25 mm × 0.25 μm) was used to determine the residues of macroporous resin in IC162; The initial temperature of column temperature program was 50 °C (holding for 5 min), then elevating to 220 °C with the increasing rate of 8 °C/min (holding for another 5 min); Both the injector and FID detector temperatures were 250 °C; Solvent media was 1% methanol with 0.1 mol/L sodium hydroxide solution and the carrier gas was nitrogen; Flow velocity was 1.0 mL/min, nine kinds of organic solvent residues of macroporous resin in IC162 were detected, such as *n*-hexane, benzene, methylbenzene, *o*-xylene, *p*-xylene, styrene, diethylbenzene, divinylbenzene, and dodecanetotal. **Results:** There was a good linearity of headspace gas chromatographic method ( $r = 0.9907 - 0.9994$ ), the RSDs of precision were all less than 8.3%. The average recoveries of the nine residues were in the range of 77.1% - 105.4% and their RSDs were all less than 6.0%. **Conclusion:** The method is simple, accurate, and sensitive. It can be used for the detection of organic solvent residues of macroporous resin in IC162.

**Key words** organic solvent residues of macroporous resin; headspace gas chromatography; IC162

阿可拉定为中药提取的黄酮类单体经酶转化得到的新的有效单体——黄酮类苷元, 属于注册分类 1 类, 即未在国内上市销售的从植物、动物、矿物等物质中提取的有效成分。阿可拉定为抗乳腺癌的原料药, 制备其前体淫羊藿苷的工艺中使用大孔树

脂柱进行分离纯化, 因此可能带入正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯基苯、正十二烷等残留物, 若这些有机溶剂残留量超标, 将影响药品质量, 危害健康<sup>[1]</sup>。根据《中国药典》2005 年版二部和人用药品注册技术规范国

收稿日期: 2010-06-13

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划资助项目 (2007BAI41B06)

\* 通讯作者 侯文彬 (1969—), 男, 研究员, 硕士生导师。Tel: 13802027519, E-mail: houwb@tjipr.com

际协调会 (ICH) 药品中有机溶剂残留量测定的指导原则, 以及国家食品药品监督管理局药品注册管理对大孔树脂的要求, 应对阿可拉定中的大孔树脂有机溶剂残留物建立检测方法, 对其残留量加以控制。本文采用毛细管气相色谱法, 配以顶空进样装置, 对阿可拉定中的 9 种大孔树脂残留物同时进行测定, 操作简便, 重现性好, 结果准确可靠, 可用于阿可拉定的大孔树脂有机溶剂残留量检测。

## 1 材料

### 1.1 仪器

美国安捷伦 Agilent 6890 气相色谱仪; Agilent 7694E 型顶空自动进样器; 氢火焰离子化检测器 (FID)。

### 1.2 试剂

正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯基苯、正十二烷对照品均购于中国生物制品检定所, 色谱纯, 质量分数均大于 99%; 甲醇、氢氧化钠为分析纯, 水为蒸馏水。阿可拉定为自制。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[2-3]</sup>

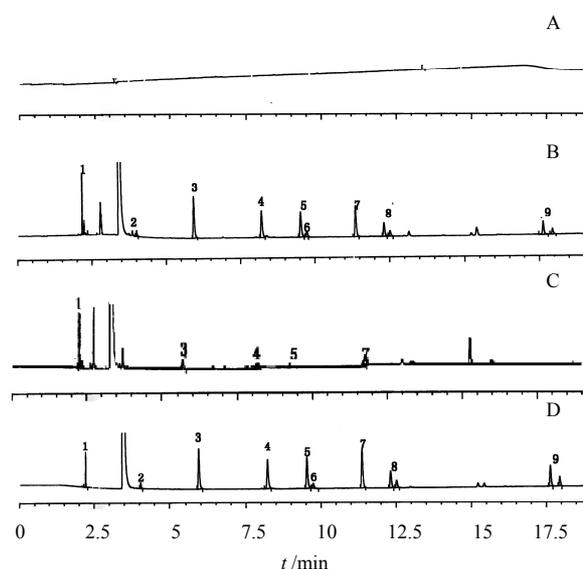
采用以聚乙二醇为固定相的 HP-INNOWAX 毛细管色谱柱 (30.0 m×0.25 mm, 0.25 μm, Agilent 公司); 柱温: 程序升温, 50℃ 维持 5 min, 以 8℃/min 的升温速率升温至 220℃, 再维持 5 min; 进样口温度 250℃; 检测器温度 250℃; 载气为氮气; 体积流量 1.0 mL/min; 分流比 1:1; 顶空条件: 90℃ 加热 30 min, 定量环 120℃, 传输管 130℃; 进样量 1 mL。在上述色谱条件下, 正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯基苯、正十二烷 9 种溶剂出峰情况良好, 且分离理想。见图 1。

### 2.2 专属性

经试验证实, 溶剂 1% 甲醇的 0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液不干扰待测溶剂正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯基苯、正十二烷等的色谱峰, 样品中其他杂质峰不干扰各待测溶剂峰, 说明本法专属性强。见图 1。

### 2.3 线性关系考察

取正己烷、苯 (1→10 用甲醇稀释)、甲苯、对二甲苯、二邻甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯基苯、正十二烷, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分



1-正己烷; 2-苯; 3-甲苯; 4-对二甲苯; 5-邻二甲苯; 6-正十二烷; 7-苯乙烯; 8-二乙基苯; 9-二乙烯基苯  
1- *n*-hexane; 2- benzene; 3- toluene; 4- *p*-xylene; 5- *o*-xylene; 6- dodecane; 7- styrene; 8- diethylbenzene; 9- divinylbenzene

图 1 空白溶剂 (A)、对照品 (B)、样品 (C)、对照品加样品 (D) 色谱图

Fig 1 Chromatograms of solvent (A), reference substances (B), sample (C), and sample with reference substances (D)

别为 196.5、18.2、199.2、172.0、175.6、197.8、180.6、192.8、194.7 μg/mL 的溶液, 作为混合对照品储备液; 精密吸取不同体积的储备液, 加 0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液稀释到刻度, 混匀, 制成 5 种不同质量浓度的系列混合对照品溶液。分别精密吸取上述不同质量浓度的对照品溶液 5 mL, 置顶空瓶中, 加盖密封, 按上述色谱条件进行检测, 以各溶剂的进样浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行回归分析, 得回归方程, 结果见表 1。

### 2.4 精密度试验

取对照品适量, 加甲醇制成储备液, 精密吸取 5 mL 置 500 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液定量稀释制成含正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、1, 2-二乙基苯、二乙烯基苯和正十二烷分别为 1.965、0.182、1.992、1.720、1.756、1.978、1.806、1.928、1.947 μg/mL 的溶液, 连续进样 6 次, 测定各溶剂峰峰面积。结果 RSD 分别为正己烷 7.96%、苯 5.78%、甲苯 6.38%、对二甲苯 8.64%、邻二甲苯 8.26%、苯乙烯 8.20%、二乙基苯 6.90%、二乙烯基苯 4.01%、正十二烷 7.97%。

表 1 溶剂残留的回归方程及线性范围

Table 1 Regressive equation and linear range of organic solvent residues

溶剂	回归方程	线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	<i>r</i>
正己烷	$Y=-7.933\ 5+10.121X$	0.393~15.720	0.990 7
苯	$Y=-1.121+26.124X$	0.036 4~1.456	0.998 8
甲苯	$Y=-9.809\ 6+22.792X$	0.398 4~15.934	0.999 3
对二甲苯	$Y=-6.345\ 9+19.377X$	0.344 0~13.760	0.999 4
邻二甲苯	$Y=-4.629\ 9+19.408X$	0.351 2~14.048	0.999 2
苯乙烯	$Y=-2.393\ 8+19.328X$	0.395 6~15.824	0.997 3
二乙基苯	$Y=-1.357\ 2+13.243X$	0.361 2~14.448	0.996 6
二乙烯基苯	$Y=1.235\ 7+11.898X$	0.385 6~15.422	0.991 9
正十二烷	$Y=-4.182\ 5+6.0807X$	0.389 5~15.579	0.990 8

## 2.5 回收率试验

称取阿可拉定约 250 mg, 共 6 份, 精密称定, 分别置 25 mL 顶空瓶中, 精密加入分别含正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯基苯和正十二烷分别为 1.965、0.182、1.992、1.720、1.756、1.978、1.806、1.928、1.947  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 1% 甲醇的 0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液 5 mL, 振摇使溶解, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算回收率, 结果见表 2。

表 2 有机溶剂残留回收率 ( $n=6$ )

Table 2 Recoveries of organic solvent residues

溶剂	平均回收率/%	RSD/%
正己烷	104.57	1.30
苯	101.16	3.49
甲苯	91.19	3.20
对二甲苯	92.41	5.33
邻二甲苯	81.44	2.36
苯乙烯	78.84	2.19
二乙基苯	77.41	4.50
二乙烯基苯	77.15	4.29
正十二烷	104.82	3.75

## 2.6 最小检测限

配制对照品储备液, 加入 1% 甲醇的 0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液依次稀释, 精密吸取 5 mL 置 20 mL 顶空瓶中, 测定信噪比, 确定信噪比为 3 时的检测量作为最小检测限, 结果见表 3。

## 2.7 样品测定

取阿可拉定约 250 mg, 精密称定, 置 20 mL 顶空瓶中, 精密加入 1% 甲醇的 0.1 mol/L 氢氧化钠水

表 3 最小检测限

Table 3 Minimum detection limit

溶剂	最小检出质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
正己烷	0.0786
苯	0.0182
甲苯	0.0398
对二甲苯	0.0482
邻二甲苯	0.0351
苯乙烯	0.0396
二乙基苯	0.0722
二乙烯基苯	0.0540
正十二烷	0.0779

溶液 5 mL, 振摇使溶解, 按前述拟订方法测定, 结果 3 批样品只检出正己烷、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯, 其质量分数分别为  $1.6\times 10^{-6}$ 、 $3.1\times 10^{-6}$ 、 $1.5\times 10^{-6}$ 、 $1.0\times 10^{-6}$ 、 $4.0\times 10^{-7}$ , 均未超过限度; 且都未检出苯、二乙基苯、二乙烯基苯和正十二烷。

## 3 讨论

3.1 采用顶空进样法测定有机残留溶剂, 可以避免样品溶液对色谱柱的污染以及样品基质的干扰, 柱效也较直接进样法高。由于样品取样量大, 该法可提高微量有机残留溶剂的色谱检测能力。另外内标法可以提高测定结果的精密性, 消除系统误差。采用程序升温, 提高了分离效率, 缩短了分析时间, 本方法具有简便、快捷、灵敏度高等优点。

3.2 溶剂的选择由于阿可拉定本身只溶于四氢呋喃, 在甲醇、乙醇中微溶, 水中几乎不溶的特点; 大孔树脂的溶剂残留量检测各个溶剂时又要求一定量样品溶解; 经试验阿可拉定在 *N,N*-二甲基乙酰胺

胺、二甲基甲酰胺和二甲基亚砷等溶剂中溶解度非常低，而且加入少量水就会析出，只能混悬在溶液中；国家食品药品监督管理局《药品中有机溶剂残留量测定的指导原则》规定在测定药品中有机溶剂残留量时，样品应溶于溶剂中，否则难以测出残留量的准确值；以上原因都给检测带来困难。后经试验发现本品在稀碱液中溶解度较好，选择不同浓度的稀碱液进行检测，最终确定1%甲醇的0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液为提取溶液。

3.3 顶空条件的选择由于本法同时测定9种沸点相差较大的残留溶剂，研究中发现顶空温度和顶空加热平衡时间对各溶剂峰的峰面积影响较大，因此考察了顶空平衡温度分别为80、90、100℃及平衡时间分别为20、30、40 min时各成分的出峰情况，结果表明顶空平衡时间在90℃时各峰响应最大，顶空平衡时间30和40 min时，各峰响应接近，本着节

省分析时间的原则，确定顶空条件为：平衡温度90℃，平衡时间30 min。

3.4 本文通过考察色谱分离、标准曲线线性、检测限、回收率及样品测定，建立了阿可拉定的树脂残留物的气相色谱测定方法，可满足经大孔吸附树脂分离纯化的阿可拉定中的9种树脂残留物的分析。

参考文献

[1] 张宏, 张祝君. 顶空毛细管气相色谱法测定水飞蓟提取物中正己烷和醋酸乙酯残留量[J]. 中草药, 2006, 37(6): 866-867

[2] 来国防, 程宾, 周兰, 等. 顶空-GC法检测灯盏花素中大孔树脂残留物的量[J]. 河南大学学报(医学版), 2009, 28(2): 81-83.

[3] 李丽敏, 钱大公, 王柯, 等. 顶空气相色谱法测定三七叶苷中大孔树脂有机溶剂残留物[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(5): 738-741.

欢迎订阅

**Chinese Herbal Medicines (CHM)**

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines (CHM)* (中草药英文版)经国家新闻出版总署(新出综合[2008]1343号文件)批准,国内统一连续出版号为:CN12—1410/R,已于2009年10月正式创刊。

CHM由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办,天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编;中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员,天津药物研究院院长汤立达研究员,中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编;天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

**办刊宗旨** 以高起点、国际化为特点,继承和发扬祖国医药学遗产,报道和反映中草药研究最新进展,宣扬我国中草药的传统特色,加强与世界各国在传统药物研究的经验交流,在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁,促进中药现代化、国际化。

**主要栏目** 综述与述评、论著、快报、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

**读者对象** 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟,组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍(第一届编辑委员会由49位专家组成,其中院士11名,国外编委19名)。吸引国内外高质量的稿件,提高期刊的学术质量;坚持按照国际标准编排,加强刊物规范化和标准化,充分利用计算机、网络技术和英语,加强与国际知名科技期刊的交流合作;充分发挥中医药特色,争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引(SCI),把CHM办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿!欢迎广大读者积极订阅!自办发行,直接与编辑部订阅!

**Chinese Herbal Medicines (CHM) 编辑部**

**天津编辑部**

地址:天津市南开区鞍山西道308号

邮编:300193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: 022-27474913

Fax: 022-23006821

Website: www.tiprpress.com

**北京编辑部**

地址:北京市海淀区马连洼北路151号

邮编:100193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: 010-62818235

Fax: 010-62894462

Website: www.tiprpress.com