

GC 法测定复方苦参注射液中聚山梨酯 80 的含量

李建伟^{1,2}, 赵莹², 聂磊²

(1. 长治医学院药理学系, 长治 046011; 2. 山西振东制药股份有限公司, 长治 047100)

摘要 目的: 建立测定复方苦参注射液中聚山梨酯 80 含量的气相色谱方法。方法: 采用脂肪酸甲酯化法进行样品前处理。气相色谱条件: DB-WAX 毛细管柱(PEG-20000, 30 m × 0.32 mm × 0.25 μm); 氢火焰离子化检测器(FID); 进样口温度 250 °C, 检测器温度为 250 °C; 柱温初始温度为 80 °C, 以 10 °C · min⁻¹ 升温至 220 °C, 保持 20 min; 载气为氮气, 恒定流速 1 mL · min⁻¹, 进样方式为分流进样, 分流比 10:1; 进样量为 1 μL。结果: 聚山梨酯 80 的进样浓度在 0.1 ~ 5.0 mg · mL⁻¹ ($r=0.9998$) 范围内呈良好线性关系; 平均回收率($n=3$) 为 97.4% ~ 100.7%。结论: 该方法简便快速, 可用于复方苦参注射液中聚山梨酯 80 的含量测定。

关键词: 复方苦参; 中药注射液; 药用辅料; 聚山梨酯 80; 气相色谱法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)10-1993-03

GC determination of polysorbate 80 in compound kushen injection

LI Jian-wei^{1,2}, ZHAO Ying², NIE Lei²

(1. Department of pharmacy, Changzhi Medical College, Changzhi 046100, China; 2. Shanxi Zhendong Pharmaceutical Co., Ltd, Changzhi 047100, China)

Abstract Objective: To establish a GC method for determination of polysorbate 80 in compound kushen injection. **Methods:** The gas chromatographic analysis was performed using Capillary column DB-WAX (PEG-20000, 30 m × 0.32 mm × 0.25 μm). The detector was FID. Inlet temperature was 250 °C and the detector temperature was 250 °C. Program temperature was used with initial column temperature of 80 °C, and increasing to 220 °C at the rate of 10 °C · min⁻¹, holding for 20 min. highly pure N₂ was adopted as carrier gas at the flow rate of 1 mL · min⁻¹. Split injection with split ratio of 10:1. Injection volume was 1 μL. **Results:** The linear range for polysorbate 80 was 0.1 ~ 5.0 mg · mL⁻¹ ($r=0.9998$); The average recoveries ($n=3$) were 97.37% ~ 100.70%. **Conclusion:** This method is simple, quick and specific. It can be applied for determination of polysorbate 80 in compound kushen injection. **Key words:** Chinese materia medica injection; compound Kushen; pharmaceutic adjuvant; polysorbate 80; GC method

复方苦参注射液是以苦参和白土苓为原料经提取、精制制成的中药注射剂, 具有清热利湿、凉血解毒、散结止痛之功效。临床用于癌肿疼痛、出血。在抗癌、缓解癌肿疼痛、控制癌性出血、改善晚期癌症患者的一般状况、配合放化疗增效减毒等方面效果显著^[1]。

聚山梨酯 80 是一种非离子型表面活性剂, 被用作增溶剂在中药注射剂中广泛使用。随着近年来研究的不断深入, 中药注射剂中聚山梨酯 80 与临床产生的不良反应有关^[2], 按照国家关于中药注射剂安

全性评价的要求, 需要建立良好的检测方法对聚山梨酯 80 含量进行控制。目前, 对制剂中聚山梨酯 80 的定性定量方法多采用硫氰酸钴铵比色法^[3,4]、分子排阻-蒸发光散射法^[5]对聚山梨酯 80 进行定性定量分析, 存在灵敏度低、专属性差和方法不易普及的缺点。本文通过对样品中的聚山梨酯在碱性条件下水解, 三氟化硼催化酯化, 采用气相色谱法对生成的油酸甲酯含量进行测定, 得到复方苦参注射液中聚山梨酯 80 的含量。方法灵敏度高、重现性好、为复方苦参注射的质量控制提供了可靠的方法。

1 仪器与试剂

Agilent7080A 气相色谱仪,氢火焰离子检测器(FID),Agilent7080A 色谱工作站(美国安捷伦科技公司)。

油酸甲酯对照品(99%,批号:20395,AccuStandard 公司)和 48% 三氟化硼-甲醇溶液(Acors 公司)购自北京百灵威科技有限公司;药用级聚山梨酯 80(批号 100311)购自上海申宇医药化工有限公司;正庚烷,甲醇,氢氧化钠,无水硫酸钠,氯化钠均为分析纯,水为注射用水。复方苦参注射液(规格:5 mL)及不含聚山梨酯 80 阴性样品均由山西振东制药股份有限公司提供。

2 色谱条件

DB-WAX 毛细管柱(PEG-20000,30 m × 0.32 mm,0.25 μm),载气为高纯氮气,恒定流速 50 cm/s,分流比 10:1,柱温初始温度为 80 °C,以 10 °C · min⁻¹ 升温速率升高到 220 °C,并保持 40 min。气化室温度 250 °C,检测器温度为 250 °C。

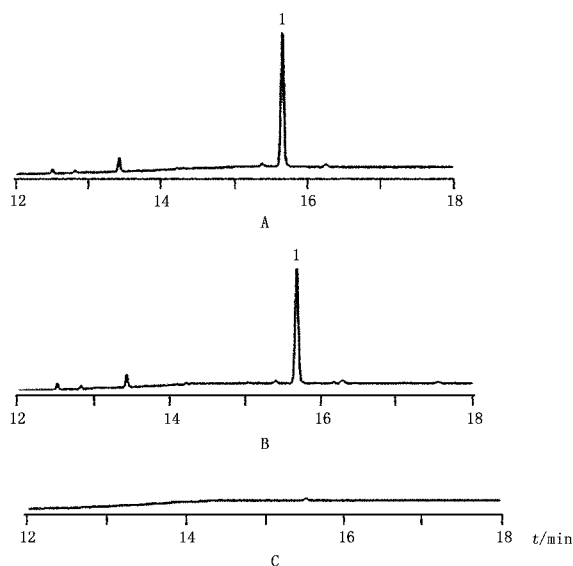


图1 对照品(A)、样品(B)和阴性样品(C)色谱图

Fig1 Chromatograms of reference substances (A), sample (B) and negative (C) from kushen injection

1. 油酸甲酯(methyl oleate)

3 样品的制备

采用脂肪酸甲酯化法制备脂肪酸甲酯。取复方苦参注射液样品 2 mL,放入烘箱中烘干后(105 °C, 2~3 h),依次加入 2% (w/v) 氢氧化钠甲醇溶液 2 mL,水浴回流 30 min,14% (w/v) 三氟化硼-甲醇溶液 2 mL,水浴回流 30 min,正庚烷 5 mL 回流 5 min。放置回流液至室温,加饱和氯化钠溶液 10.0 mL,振

摇 15 s,移取正庚烷层(上层),水洗,加适量无水硫酸钠脱水,即得。

4 溶液制备

4.1 对照品储备液 取 5.0 g 聚山梨酯 80 精密称定,用水溶解,并定容至 100 mL,配成 50 mg · mL⁻¹ 的储备液。

4.2 对照品溶液 取对照品储备液,用复方苦参注射液阴性溶液稀释至 2.5 mg · mL⁻¹,进行甲酯化后,取 1 μL 注入 GC 分析。

4.3 供试品溶液 取经甲酯化的样品 1 μL,注入 GC 分析。

5 方法学考察

5.1 线性关系考察 分别精密量取对照品储备液 1,2,5,10,25 mL,用热水稀释,并定容至 50 mL,使之配成 1,2,5,10,25 mg · mL⁻¹ 的标准溶液。分别精密量取上述标准溶液和储备液 1 mL,加入 9 mL 复方苦参注射液阴性溶液定容,摇匀,得系列浓度为 0.10,0.20,0.50,1.0,2.5,5.0 mg · mL⁻¹ 的复方苦参注射液对照品溶液。取上述对照品溶液,按照样品制备的方法进行处理。最后取 1 μL,注入 GC 分析,并记录其峰面积。以峰面积 Y 对浓度 X (mg · mL⁻¹) 进行回归分析,得回归方程:

$$Y = 93.129X - 1.838 \quad r = 0.9998$$

聚山梨酯 80 在 0.1 ~ 5.0 mg · mL⁻¹ 浓度范围内的线性关系良好。

5.2 精密度试验 取同一供试品溶液在上述色谱条件下分析,连续重复进样 6 次,测得聚山梨酯 80 峰面积的 RSD = 0.68% (n = 6)。

5.3 重复性试验 精密称取同一批复方苦参注射液样品 6 份,按照“3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下分析,计算聚山梨酯 80 的含量,平均含量(n = 6)为 2.24 mg · mL⁻¹,RSD = 2.32%。

5.4 回收率试验 吸取已知含量(2.24 mg · mL⁻¹)的同一批复方苦参注射液 2 mL 共 9 份,按低、中、高浓度分别精密加入聚山梨酯 80 对照品溶液(1.25 mg · mL⁻¹) 1.10,1.80,2.50 mL。每一浓度 3 份,使浓度是其原来的 80%,100%,120%,按照“3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下分析,计算回收率。结果低、中、高 3 个加入量的平均回收率(n = 3)分别为 97.4% (RSD = 1.1%),100.7% (RSD = 1.1%),97.6% (RSD = 0.57%)。

5.5 专属性试验 取不加聚山梨酯 80 的复方苦参

注射液阴性样品,按照“3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下分析测定,结果表明在与油酸甲酯相同的保留时间处无吸收峰。

6 样品含量测定

按“3”项下方法对3个不同批次的复方苦参注射液进行处理,每批平行制备3个供试品溶液($n=3$),分别进样,测得3批复方苦参注射液中聚山梨酯80的含量分别为:2.24 2.03 2.45 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

7 讨论

本试验建立了用气相色谱法测定复方苦参注射液中聚山梨酯80含量的方法。方法简便、准确、灵敏度高、分离度好,可为复方苦参注射液中聚山梨酯80含量的控制提供理论依据和方法基础。

参考文献

- 1 REN Yi-jun(任贻军), ZHANG Hong-lin(张宏琳). Progress of clinical use in compound kushen injection(复方苦参注射液的临床应用进展). *Mod Med Health.* (现代医药卫生) 2008 24(5): 715

- 2 WU Yi(吴毅), JIN Shao-hong(金少鸿). Progress of pharmacological pharmacokinetics properties and analytic method of pharmaceutical adjuvant polysorbate 80. (药用辅料聚山梨酯80的药理、药动学及分析方法研究进展). *Chin J Pharm Aff* (中国药事) 2008 2(8): 717
- 3 LIU Yan-mei(刘燕梅), PU Xu-feng(蒲旭峰), ZHANG Liang(张良) et al. Determination of polysorbate 80 in Yuxingcao Injection by colorimetry(比色法测定鱼腥草注射液中聚山梨酯80含量). *Drug Stand China* (中国药品标准) 2008 9(6): 434
- 4 YAN Wei-juan(闫位娟), WANG Jian-nong(王建农), SHAO Li-Jun(邵立军). Qualitative and quantitative determination of tween 80 in 42 traditional Chinese medicine injections(42种中药注射剂中吐温80定性定量测定). *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报) 2009 30(21): 2366
- 5 WU Yi(吴毅), LIANG Cheng-gang(梁成罡), JIN Shao-hong(金少鸿) et al. SEC-ELSD determination of polysorbate 80 in traditional Chinese medicine injection. (SEC-ELSD法测定中药注射液中聚山梨酯80的含量). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2008 28(1): 12

(本文于2011年1月6日收到)

《药物分析杂志》稿件在线管理系统已开通

本刊于2008年10月23日开通稿件在线管理系统。2011年6月系统开始升级改版,凡新投稿本刊,请登录 <http://www.ywfxzz.cn> 进入新系统进行网上投稿和查询。2011年6月之前已投稿件,请登录“旧系统”查询及办理审稿、修改等事宜。

该系统采用E-mail作为用户名进行注册。

网上投稿的同时需寄单位介绍信及稿件处理费。

作者在线投稿后,可在线了解稿件情况:编辑-送审-专家已审-待编辑处理稿件-退修-编辑加工完成-已刊出等。

读者可在线查阅本刊,并可在在线订阅本刊。欢迎登录本刊网页,了解本刊编委专家及其他信息。

投稿过程中如遇技术问题,请与技术支持联系:010-69296712(旧系统),010-60213863(新系统)。

谢谢合作!

《药物分析杂志》编辑部