顶空气相色谱法测定苦参总碱中三氯甲烷的残留量*

贺凯[1],王汉卿[2],王坤[1],王英华[1]

(1. 宁夏回族自治区药品检验所,银川 750004; 2. 宁夏医科大学药学院,银川 750004)

摘要 **目的:** 建立苦参总碱中三氯甲烷残留的检测方法。**方法:** 采用气相色谱顶空进样法,聚乙二醇(DB-WAX)毛细管柱,FID检测器,柱温采用程序升温,初始温度为60 ℃,保持6 min,然后以15 ℃·min^{-1}升温速率升至180 ℃,保持5 min。**结果:** 各个峰的分离效果好,三氯甲烷浓度在12.4~1236.6 μg·mL^{-1}的范围内呈良好的线性关系(r=0.9940),平均回收率为94.5%。**结论:** 本方法结果准确、灵敏度高、重复性好,可以作为苦参总碱中三氯甲烷残留的检测方法。

关键词: 原料药; 生物碱; 苦参总碱; 三氯甲烷残留; 残留溶剂; 顶空气相色谱法

中图分类号: R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254-1793(2011)09-1824-03

Headspace GC determination of residual chloroform in matrine*

HE Kai[1], WANG Han-qing[2], WANG Kun[1], WANG Ying-hua[1]

(1. Ningxia Institute for Durg Control, Yinchuan 750004, China;
2. Pharmacy College Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

Abstract **Objective:** To establish a method to determine the residual chloroform in matrine. **Methods:** Using DB-WAX capillary column, FID detector and program temperature. The initial temperature was kept at 60 ℃ for 6 minutes, then the temperature was raised to 180 ℃ at the rate of 15 ℃·min^{-1} and kept for 5 minutes. **Results:** All the peaks were completely separated, the calibration curve showed a good linearity with the range of 12.4-1236.6 μg·mL^{-1}(r=0.9940). The average recovery was 94.5%. **Conclusion:** The method is accurate, sensitive and repetitive to determine residual chloroform in matrine.

Key words: bulk drug; alkaloid; matrine; residual chloroform; residual solvent; headspace GC

苦参总碱为从豆科植物苦参的根中提取得到的总生物碱,在其生产工艺中涉及了诸多的有机溶剂,其中三氯甲烷的毒害性很大,要严格控制,限制使用[1]。而药品中残留溶剂的检测具有含量低,残留量相差较大,残留组分不确定以及检测方法的不同对结果有一定影响等特点,这就造成了残留溶剂在实际检测和控制中具有复杂性和不确定性。目前其质量标准[2]中无有机溶剂残留检查项,也未见相关文献报道,笔者参考2010年版中国药典二部及相关文献[3,4],建立了苦参总碱中三氯甲烷残留量检测方法,并进行方法学验证,实验结果显示,该方法简便快速,结果准确,重现性好。

1 仪器与试剂

Agilent 6890N气相色谱仪及工作站,Agilent 7694E顶空进样器。FID检测器,高纯氮气(99.999%)。样品苦参总碱由宁夏盐池紫荆花药业提供,N,N-二甲基甲酰胺和三氯甲烷均为色谱纯,水为纯化水。

2 色谱条件与系统适用性结果

采用DB-WAX毛细管气相色谱柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm),氢火焰离子化检测器(FID);进样口温度为220 ℃,检测器温度为250 ℃;柱温采用程序升温,初始温度为60 ℃,保持6 min,然后以15 ℃·min^{-1}升温速率升至180 ℃,保持5 min。载气为氮气,流速为0.9 mL·min^{-1};顶空进样,顶空瓶平衡温度90 ℃,定量环温度为100 ℃,传输管温度为110 ℃;进样体积1 mL。

* 宁夏十一五科技攻关项目,宁科技字[2006]74号
第一作者 Tel:(0951)4104813; E-mail: woshihekai@163.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

精密称取苦参总碱样品 0.1 g 置 20 mL 顶空瓶中,精密加 25% *N*,*N* – 二甲基甲酰胺溶液 5 mL,摇匀,照上述色谱条件进样,记录色谱图,见图 1。三氯甲烷的理论塔板数为 133562,与相邻峰的分离度分别为 24.82 和 8.29。

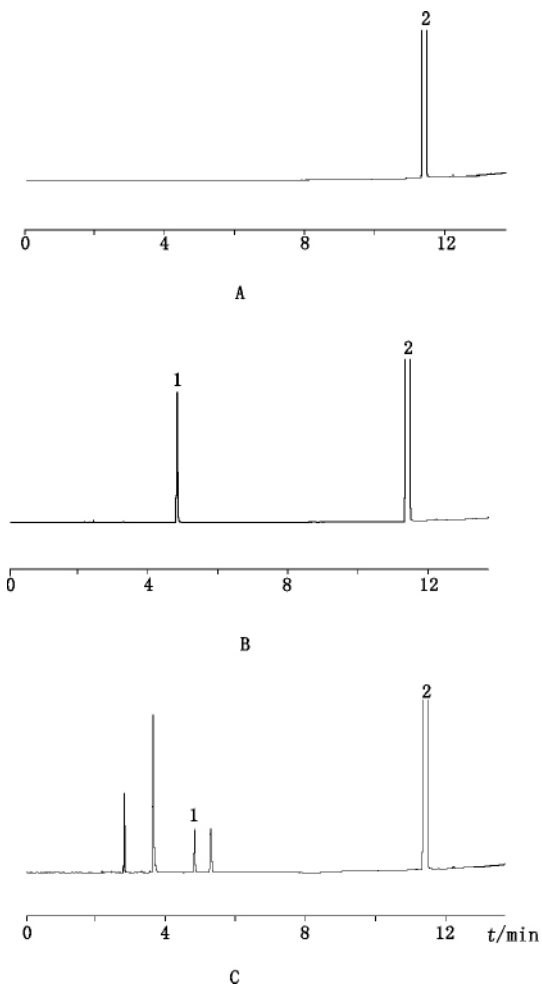

图 1 空白溶液(A)、对照品溶液(B)、样品溶液(C)色谱图

Fig 1 Chromatograms of blank solution(A), standard solution(B) and sample solution(C)

1. 三氯甲烷(chloroform) 2. *N*,*N* – 二甲基甲酰胺(*N*,*N* – dimethylformamide)

3 方法的验证

3.1 对照品储备液的制备 取三氯甲烷适量,加 *N*,*N* – 二甲基甲酰胺制成 6.18 mg·mL^{-1} 的溶液,即得。

3.2 线性关系考察 分别精密吸取对照品储备液 0.1,0.5,1.0,5.0,10.0 mL,分别置 50 mL 量瓶中,加 25% *N*,*N* – 二甲基甲酰胺溶液稀释至刻度,摇匀,分别精密量取 5 mL 置 20 mL 顶空瓶中,密封,按上述气相色谱条件测定,以被测物峰面积 *A* 为纵坐标,以被测物浓度 *C* 为横坐标,绘制标准曲线。回归方程为:

$A = 0.366C + 17.148$ $r = 0.9940$

三氯甲烷浓度在 12.4 ~ 1236.6 μg·mL^{-1} 的范围内呈良好的线性关系。

3.3 加样回收试验 分别精密吸取三氯甲烷对照品储备液适量,用 25% *N*,*N* – 二甲基甲酰胺溶液定量稀释成含三氯甲烷 30.9,61.8,92.7 μg·mL^{-1} 的溶液,制得相当于检查限度的 50%,100%,150% 对照品溶液 3 份。取样品(已测定未检出三氯甲烷)0.3 g,精密称定,共 9 份,置 20 mL 顶空瓶中,分别加入上述 3 种浓度的对照品溶液 5 mL(各 3 份),密封,振摇溶解,按前述方法测定,计算回收率。结果 50% 浓度时,平均回收率($n = 3$)为 94.5%,RSD 为 2.1%;100% 浓度时,平均回收率为 93.7%,RSD 为 4.0%;150% 浓度时,平均回收率为 95.2%,RSD 为 7.2%。

3.4 精密度试验 精密量取对照品储备液 1 mL 置 100 mL 量瓶中,加 25% *N*,*N* – 二甲基甲酰胺溶液稀释至刻度,摇匀,再精密量取 6 份,每份 5 mL,置 20 mL 顶空瓶中,密封,同法测定,结果测得三氯甲烷峰面积的 RSD 为 1.8%。

3.5 检测限与定量限 精密量取对照品储备液,逐步稀释,按上述色谱条件进样测定,分别依据 3∶1 和 10∶1 的信噪比计算,测得三氯甲烷的检测限为 0.499 μg·mL^{-1},定量限为 1.250 μg·mL^{-1}。

4 样品的测定

分别取各个批号的样品约 0.3 g,精密称定,置 20 mL 顶空瓶中,精密加入 25% *N*,*N* – 二甲基甲酰胺溶液 5 mL 使溶解,密封,即得供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果见表 1。残留的三氯甲烷量均未超中国药典规定的限度(0.006%)。

表 1 苦参总碱中三氯甲烷残留测定结果

Tab 1 Results of residual organic solvents determination samples in matrine

批号(Lot No.)	残留的三氯甲烷量(content of residual chloroform)/%
080310	未检出(not detected)
081026	0.005
080214	0.005
080107	0.004
080624	未检出(not detected)
080912	未检出(not detected)

5 讨论

5.1 溶剂的选择 本实验考察了常用的 3 种溶剂,

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

其中三氯甲烷在水中溶解性较差; 二甲亚砜虽然可以溶解三氯甲烷,但熔点较低,在天冷时常以固态存在,使用不方便; *N*,*N* – 二甲基甲酰胺能很好地溶解三氯甲烷与苦参总碱样品,且使用方便,是本实验首选溶剂。考虑经济方面的原因,除储备液外,均采用25%的 *N*,*N* – 二甲基甲酰胺溶解并稀释样品与对照品,得到了良好的结果。

5.2 由于三氯甲烷的沸点较低(64 ℃),理论上应采用顶空进样法,且通过与直接进样法的比较分析,顶空进样分离效果好,而直接进样分离效果较差且苦参总碱样品会进入色谱系统污染进样口及色谱柱,对样品的测定造成一定的影响,故选择顶空进样方法。色谱图见图2。

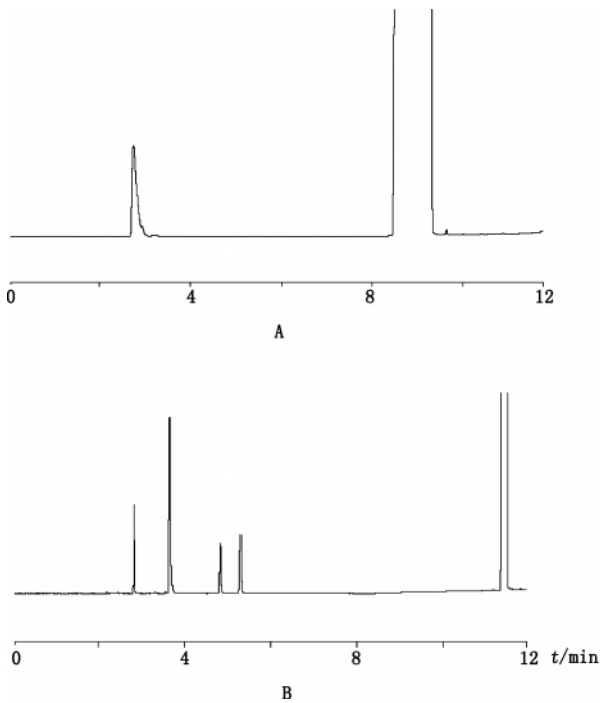

图2 直接进样法(A)、顶空进样法(B)

Fig 2 Normal GC method(A) and HPGC method(B)

5.3 因为样品间的三氯甲烷残留量有较大的差异,故需选择较广的线性范围,本实验考察的线性范围为12.4 ~1236.6 μg·mL^{-1}。

5.4 以25%的 *N*,*N* – 二甲基甲酰胺溶液为溶解介质,将苦参碱溶解并稀释成0.06 g·mL^{-1}的溶液作为样品溶液; 以"2.2"项下的色谱条件采用2种不同极性的毛细管色谱柱(DB – WAX 和 HP – 1)分别进样测定,结果显示用 DB – WAX(极性)柱分离效果好。理论上 HP – 1 柱为非极性柱,其固定液与所用溶剂的极性不匹配,会导致峰形不好,实验结果也显示 HP – 1 柱不适用于极性溶剂。因此,试验时采用 DB – WAX 毛细管气相色谱柱。见图3。

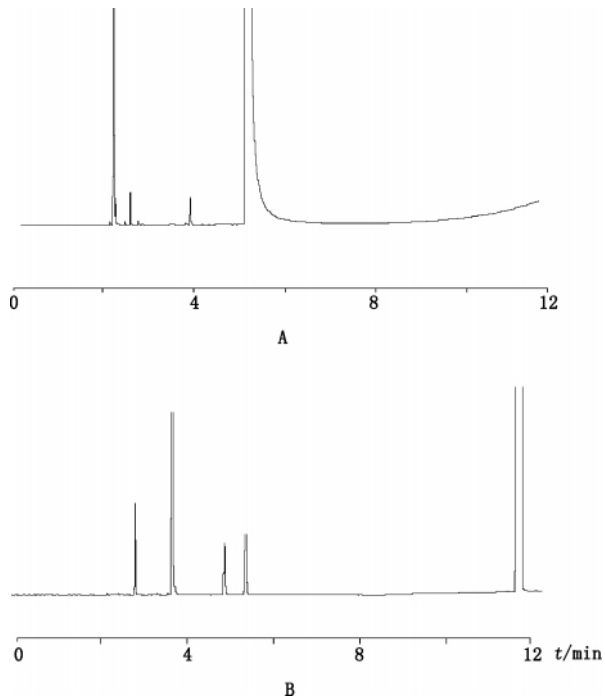

图3 HP – 1 柱(A)、DB – WAX 柱(B)

Fig 3 HP – 1 column(A) and DB – WAX column(B)

参考文献

1 ChP(中国药典). 2005. Vol Ⅱ(二部): Appendix(附录) Ⅷ P, Residual Solvents Test(残留溶解测定法)

2 ChemicalMedicine of District Drug Specifications Promoted to National Drug Standard(化学药品地方标准上升国家标准). Vol 12(第十二册): 27

3 FENG You – long(冯有龙), WU Nai – ying(伍乃英), DENG Ming(邓鸣). GC headspace determination of residual solvents in ambroxol hydrochloride(顶空气相色谱法测定盐酸氨溴索中的残留溶剂). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2009, 29(10): 1741

4 XU Li – yong(许莉勇). Headspace GC determination of residual solvents in imiquimod(顶空气相色谱法测定咪喹莫特中有机溶剂残留量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2010, 30(6): 1084

(本文于2010年10月28日收到)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net