

3 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱 YMC C₁₈ (4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙酸水 (35:4:61); 流量: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 285 nm; 灵敏度 0.01 AUFS; 进样量 20 μL; 柱温: 35 °C; 外标法。

3.2 对照品贮备液的配制

取橙皮苷对照品约 1.5 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度作为标准贮备液备用。

3.3 供试品溶液的配制

取百年康口服液 5 支摇匀, 精密量取 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 离心 (2000 r · min⁻¹) 20 min, 上清液作为供试品溶液。另取缺陈皮的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制得阴性对照液。

3.4 标准曲线的制备

分别吸取对照品贮备液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 置 5 个 2 mL 量瓶中, 以甲醇稀释至刻度, 混匀后, 分别进样 20 μL, 记录色谱图。采用最小二乘法, 以色谱峰面积 (A) 对浓度 (C) 作直线回归, 得回归方程为: $A = 25566.5C + 5397.3$, $r = 0.9993$, 结果表明橙皮苷在 10 ~ 100 mg · L⁻¹ 范围内呈线性。

3.5 稳定性考察与精密度试验

取某浓度 (35.8 mg · L⁻¹) 对照品溶液分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 测得橙皮苷供试品的峰面积 RSD 为 0.69%, 结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。取某一浓度 (17.9 mg · L⁻¹) 对照品溶液, 连续进样 5 针, 测得进样精密度 RSD 为 0.63%。

3.6 重复性试验

按供试品溶液的制备项下操作, 制得供试品溶液 5 份, 测定样品中橙皮苷含量, RSD 为 1.92%, 结果表明重复性良好。

3.7 加样回收率试验

取同一批号已知含量的百年康口服液, 0.5, 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入适量橙皮苷对照品溶液, 用甲醇稀释定容, 照上述方法测定, 测得平均回收率为 101.49%, RSD 为 1.81%, 结果见表 1。

3.8 含量测定

取百年康口服液适量, 按上述供试液制备方法制备样品, 分别进样 20 μL, 分析测定, 计算含量, 结果见表 2。

表 1 橙皮苷的回收率

N _a	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.220	0.374	103.18		
2	0.220	0.374	103.18		
3	0.220	0.371	101.82	101.49	1.81
4	0.330	0.632	102.24		
5	0.330	0.623	99.70		
6	0.330	0.620	98.80		

表 2 百年康口服液的含量测定

批号	含量 /mg/支	平均含量 /mg/支	RSD /%		
20050402	2.63	2.67	2.66	2.65	0.785
20050411	2.95	2.95	2.91	2.94	0.786
20050428	2.85	2.87	2.89	2.84	0.697

4 讨论

4.1 曾有报道^[2]采用比色法测定百年康口服液中以黄芪甲苷为指标的总皂苷的含量, 但其专属性不强, 故不适用于产品质量的控制; 笔者也曾采用高效液相色谱法^{[1][2]}测定本品中黄芪甲苷的含量, 但由于其含量太低, 且组方中杂质干扰较多, 不易分离, 故选择组方中含量较高的陈皮苷作为质控指标, 采用高效液相法测其含量, 操作简便, 被测成分分离完全, 结果准确可靠。

4.2 取百年康口服液, 适当稀释后, 在 200 ~ 400 nm 范围内扫描, 其最大吸收在 285 nm, 与药典规定的 283 nm 相近, 故采用 285 nm 作为测定波长。流动相选择时曾参考文献^[3]的甲醇-水 (38:62), 但峰形不理想, 故采用 2005 年版药典^{[1][3]}陈皮含量测定的流动相, 分离效果比较满意。

4.3 不同批号百年康测定结果有一定的差异, 可能与药材来源、生产工艺有关, 其原因有待进一步探讨。

参考文献

- [1] Ch. P (2005) Vol. (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 254, 132, 212-213.
- [2] 丁青龙, 张小霞. 百年康口服液的稳定性研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2001, 18(5): 414-415.
- [3] 张琦, 赵因, 艾春梅. RP-HPLC 测定好娃娃口服液中橙皮苷的含量 [J]. 华西药学杂志, 2001, 16(1): 52-53.

收稿日期: 2007-02-03

顶空气相色谱法测定米非司酮中有机残留溶剂含量

李红霞 (湖北省肿瘤医院, 武汉 430074)

摘要: 目的 建立米非司酮中残留有机溶剂的检测方法。方法 采用顶空进样毛细管气相色谱法, 以为 1% 的盐酸水为溶解介质, 色谱柱为 DB-Waxetr PEG 2000, 载气为氮气, FID 检测器, 测定米非司酮中残留的丙酮、二氯甲烷、异丙醚、四氢呋喃、环己烷。结果 溶剂对残留溶剂测定无干扰, 线性关系良好。结论 顶空气相色谱法测定米非司酮中残留溶剂分离效果好, 方法灵敏、准确。

关键词:顶空气相色谱法;残留溶剂;米非司酮;丙酮;二氯甲烷;异丙醚;四氢呋喃;环己烷

中图分类号:R977.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2007)07-0629-03

Simultaneous Detecting of Residual Solvent from the Mifepristone by Headspace Gas Chromatography

LI Hong-xia

ABSTRACT:OBJECTIVE The method for mc determination of Residual solvent from was established **METHODS** The headspace GC was used The medium of solvent was 1% hydrochloric acid aqueous solution A DB - Waxetr PEG 2000 column was used with high purity nitrogen as carrier gas and FD detector The residual solvent including acetone, dichloromethane, isopmpyl ether, tetrahydrofuran and hexamethane in mifepristone was determined **RESULTS** Themedium has no effect on the determination of residual solvent The linear of standard curves is well **CONCLUSDN** Method is simple, quick, and accuracy for detemingion of residual solvent in mifepristone

KEY WORDS: headspace GC; residual solvent; mifepristone; acetone; dichloromethane; hexamethane; tetrahydrofuran; isopropyl ether

米非司酮是一种具有甾体结构的抗孕激素,从子宫受体水平干扰孕酮对妊娠的支持作用,使妊娠的绒毛组织及蜕膜变性,内源性前列腺素释放,使黄体素下降,黄体萎缩,从而使依赖黄体发育的胚囊坏死而发生流产。在米非司酮的生产过程中使用过有害的有机溶剂,如二氯甲烷、环己烷、四氢呋喃,另外丙酮及异丙醚作为精制溶剂,根据国家药典等对残留溶剂的有关规定,结合药品性质作者制订了该药品残留溶剂的检验方法。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

Agilent6890气相色谱仪;配备FD检测器;Agilent7694E顶空进样器;Agilent化学工作站。

1.2 试剂

米非司酮(湖北葛店人福药业有限公司生产),批号:060201。

1.3 试剂

丙酮、四氢呋喃、二氯甲烷、异丙醚、环己烷、盐酸均为分析纯(上海化学试剂有限公司),水为注射用超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性实验

顶空进样室温度:90;定量环温度:105;样品平衡时间:60 min;定样环平衡时间:2 min。色谱柱:DB - Waxetr, PEG 2000毛细管色谱柱(30 m ×320 μm ×0.25 μm);柱温(起始温度):40;保持时间:8 min;以8·min⁻¹升温至200,保持10 min;检测器温度:250;进样口温度:150;载气:氮气(99.999%);流速:1.0 mL·min⁻¹;分流比:10:1,外标法定量。

2.2 溶液的配制

2.2.1 标准溶液配制 对照储备液配制:增量法精密称取二氯甲烷 60 mg,丙酮 500 mg,四氢呋喃 72 mg,异丙醚 500 mg,环己烷 388 mg于一个已加入 1%的盐酸水溶液的 100 mL的量瓶中,再加入 1%的盐酸水溶液稀释至刻度,混匀,得溶液 A。再精密量取溶液 A 1.0 mL至 10 mL量瓶中用 1%

的盐酸水溶液稀释至刻度,得对照储备液。对照溶液的配制:精密量取对照储备液 1.0 mL置 10 mL,得顶空进样瓶中,加 1%的盐酸水溶液 2 mL,溶解,密封后作为标准溶液。

2.2.2 供试品溶液制备 精密称取供试品 0.1 g,置 10 mL,顶空瓶中,精密加入 1%的盐酸水溶液 3 mL,密闭,振摇溶解,置阴凉处备用。

2.3 色谱条件的选择

2.3.1 顶空进样条件的选择 由于本品所需测定的有机溶剂沸点范围广,所以必须寻找一个较为适用的进样条件使所有的残留溶剂都能检测出来。取标准溶液 1.0 mL,放入顶空瓶中,分别在不同的温度下平衡 45 min,实验发现随温度升高峰面积增大,在 90 后趋于稳定,在于 90 时平衡不同的时间,发现随时间的增长峰面积增大。但在 45 min后峰面积变化不再明显。所以,我们采用 90 平衡 60 min为顶空条件。

2.3.2 色谱条件的选择 经过选用不同的分流比、柱温以及载气的流速,最终选定上述条件,在这个条件下各溶剂峰能得到很好的分离。

2.4 线性关系试验

分别精密量取丙酮、二氯甲烷、四氢呋喃、异丙醚、环己烷适量,用 1%的盐酸水溶液逐级稀释,制成一系列浓度的溶液。分别精密量取 3.0 mL,置 10 mL顶空瓶中密闭,进样 1 mL,按“2.1”项下色谱条件进行检测,以标准峰面积为纵坐标(Y),标准浓度为横坐标(X),进行线性回归,见表 1。

表 1 回归方程与线性范围试验结果(n=6)

	回归方程	r	线性范围(×10 ⁻⁶)
丙酮	Y=0.387X+125.0	0.999 8	50~5000
四氢呋喃	Y=0.865X+67.65	0.999 7	14.4~720
异丙醚	Y=0.524X+26.2	0.999 5	50~5000
二氯甲烷	Y=0.411X+21.1	0.999 2	12~600
环己烷	Y=0.348X+15.2	0.999 4	77.6~3880

2.5 回收率试验

取本品(批号 060201)约 0.1 g,精密称定,共 9份,置 10

mL顶空瓶中,分别精密加入对照储备液 0.8, 1.0, 1.2 mL各三份,加 1%的盐酸水溶液至 3 mL,密闭,振摇溶解。按“2.1 项下色谱条件测定,顶空进样 1 mL,按外标法计算实测浓度。结果表明丙酮的回收率及 RSD (%)分别为: 92.8%、5.2%,四氢呋喃回收率及 RSD (%)分别为: 97.3%、5.8%,异丙醚的回收率及 RSD (%)分别为: 95.8%、6.2%,二氯甲烷的回收率及 RSD (%)分别为: 94.1%、6.1%,环己烷的回收率及 RSD (%)分别为: 97.7%、6.5%。

2.6 检出限量

分别配置不同浓度的丙酮、二氯甲烷、四氢呋喃、异丙醚、环己烷,分别精密量取 3.0 mL,置 10 mL顶空瓶中密闭,进样 1 mL,按“2.1 项下色谱条件进行检出限量试验,结果丙酮检出限量为 12.5×10^{-6} ,二氯甲烷检出限量为 15×10^{-6} ,四氢呋喃检出限量为 12×10^{-6} ,异丙醚检出限量为 15×10^{-6} ,环己烷的检出限量为 10×10^{-6} 。

2.7 样品中有机残留溶剂检查

按“2.1 项下色谱条件,分别精密称取不同批号的供试品 0.1 g,置 10 mL顶空瓶中,精密加入 1%的盐酸水溶液 3 mL,密闭,振摇溶解,顶空进样 1 mL,按外标法计算,结果见表 2。

表 2 样品中有机残留物检查结果 ($\times 10^{-6}$)

溶剂	060201	060202	060203
丙酮	310	335	120
四氢呋喃	25	38	32
二氯甲烷	未检出	未检出	未检出
异丙醚	未检出	未检出	未检出
环己烷	101.5	80.5	100.5

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

对丙酮、二氯甲烷、四氢呋喃、异丙醚、环己烷的分离测定方法,大多采用填充柱,但是对于残留溶剂的分析,填充柱的分析时间长,分离度低,所以采用了弹性毛细管柱,试验用了弱极性 (DB-5) 和极性毛细管柱 DB-Waxetr PEG 2000,发现极性毛细管柱分离度好,峰型好,灵敏度高,重复性好。

3.2 溶剂的选择

由于米非司酮不溶于水,但溶于酸性水溶液,所以选择 1%的盐酸水溶液作为溶剂,它对被测溶剂及供试品的溶解性均非常理想,并且对检测峰无干扰。

4 结论

本品在制备和精制过程中应用过丙酮、二氯甲烷、异丙醚、四氢呋喃、环己烷,所以选择以上 5 种溶剂作为有机溶剂指标物进行残留量控制。结合 ICH 关于化学药物残留溶剂研究的技术指导原则及中国药典 2000 版二部附录中的有关有机溶剂残留量限度的规定,我们制定丙酮溶剂残留为应小于 5000×10^{-6} ,二氯甲烷应小于 600×10^{-6} ,环己烷应小于 3880×10^{-6} ,四氢呋喃应小于 720×10^{-6} ,异丙醚参照 ICH 由于未制定限度,暂按照三类溶剂的量定小于 5000×10^{-6} 。

参考文献

- [1] Ch P(2000) Vol (中国药典 2000 年版,二部) [S]. 2000: 附录 64.
- [2] 李眉, 王玉楠. 简介 ICH 关于化学药物残留溶剂研究的技术指导原则 [J]. 中国药师, 1998, 1(3): 119.

收稿日期: 2006-09-25

高效液相色谱法测定抗感口服液中绿原酸的含量

张云, 徐照辉* (浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要:目的 建立测定抗感口服液中绿原酸的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱, 流动相为甲醇-0.4%磷酸溶液 (15:85), 检测波长为 327 nm。结果 回归方程 $Y = 47778X + 540$, $r = 0.9998$ 。线性范围在 0.12 ~ 15 μ g。结论 此方法提取简单, 准确度与重复性均符合测定要求。

关键词: 抗感口服液; 高效液相色谱法; 绿原酸

中图分类号: R917.101; R931.6

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2007)07-0631-03

Determination of Chlorogenic Acid in Kanggan Oral Liquid by HPLC

ZHANG Yun, XU Zhao-hui* (Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish HPLC method determination of chlorogenic acid in kanggan oral liquid. **METHODS** HPLC method was used with C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), the mobile was methanol-0.4% H_3PO_4 (15:85). Detection wavelength

作者简介: 张云, 男, 副主任中药师
85379660

Tel: (0571) 85351856

E-mail: zhangyun16@163.com

* 通讯作者: 徐照辉

Tel: (0571)