

HPLC法测定甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物中有关物质的含量

王冬^{1*},周健鹏²,王晨^{1#}(1.国家肿瘤临床医学研究中心/天津市肿瘤防治重点实验室/天津医科大学肿瘤医院药学部,天津 300060;2.天津市药品检验所,天津 300070)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)24-3436-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.24.43

摘要 目的:建立测定甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物中有关物质含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent C₁₈,流动相为甲醇-磷酸盐缓冲液(30:70, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为202 nm,柱温为20 ℃,进样量为20 μl。结果:甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯质量分数在0.001%~0.015%范围内均与其峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 4, 0.999\ 1$);精密度、稳定性和重复性试验的RSD均 $<2\%$;甲基丙烯酸平均加样回收率为86.59%,RSD为2.3%($n=9$),丙烯酸乙酯平均加样回收率为91.24%,RSD为3.5%($n=9$)。结论:该方法简单、准确、重复性好,可用于甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物中有关物质的含量测定。**关键词** 甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物;有关物质;高效液相色谱法;含量

Determination of Related Substances in Methylacrylic Acid - Ethyl Acrylate Copolymer by HPLC

WANG Dong¹, ZHOU Jian-peng², WANG Chen¹(1.National Clinical Research Center for Cancer/Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy/Dept. of Pharmacy, Tianjin Medical University Cancer Hospital, Tianjin 300060, China; 2.Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of related substances in methylacrylic acid - ethyl acrylate copolymer. METHODS: HPLC was performed on the column of Agilent C₁₈ with mobile phase of methanol-phosphate buffer (70:30, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 202 nm, column temperature was 20 ℃, and the sample size was 20 μl. RESULTS: The linear range was 0.001%-0.015% for both methylacrylic acid ($r=0.999\ 4$) and ethyl acrylate ($r=0.999\ 1$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; the average recoveries of methylacrylic acid and ethyl acrylate were respectively 86.59% (RSD=2.3%, $n=9$) and 91.24% (RSD=3.5%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the contents determination of related substances in methyl acrylic acid-ethyl acrylate copolymer.

KEYWORDS Methyl acrylic acid-ethyl acrylate copolymer; Related substances; HPLC; Content

时,桉油精的含量最高;分析其原因,可能与行距过小影响植株光合作用及生长环境的养分吸收有关^[10]。考虑到种植基地单位面积蕲艾产量的因素,笔者建议蕲艾最佳种植密度为行距30 cm×40 cm。

综上所述,本方法操作简便、快速,结果准确、可靠,重复性良好,可用于蕲艾中桉油精含量的测定。通过考查不同种植密度下蕲艾中桉油精的含量变化,可为规范种植优质蕲艾药材提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:82-83,附录63.
- [2] 刘巍,刘萍,刘薇芝,等.蕲艾的研究概况[J].中国药师,2011,14(10):1 531.
- [3] 李冬梅,张新春,尹晓飞.β-环糊精包合艾叶挥发油的研究[J].中国医院药学杂志,2005,25(6):519.
- [4] 白静,胡雷,张丽,等.艾叶发酵物治疗系统性白色念珠菌

感染[J].医药导报,2014,33(11):1 438.

- [5] 熊振芳,邢彩珍,胡慧,等.蕲艾提取液对免疫性肝纤维化大鼠细胞增殖和凋亡的影响[J].时珍国医国药,2014,25(7):1 609.
- [6] 李恩波,孙稚颖.艾叶及其常见混伪品的分子鉴定[J].中国药房,2013,24(43):4 037.
- [7] 卢化,张义生,黎强,等.蕲艾的HPLC指纹图谱研究[J].中国药房,2015,26(9):1 255.
- [8] 梁欢,卢金清,戴艺,等.HS-SPME-GC-MS结合化学计量法对不同产地艾叶药材挥发性成分的比较分析[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(18):85.
- [9] 靳然,于密密,赵百孝,等.不同年份蕲艾叶及不同比例艾绒化学成分研究[J].中国针灸,2010,30(5):389.
- [10] 郭兰萍,张燕,朱寿东,等.中药材规范化生产(GAP)10年:成果、问题与建议[J].中国中药杂志,2014,39(7):1 143.

* 主管药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:022-23340123-5104。E-mail:lvn1314@126.com

通信作者:主任药师。研究方向:医院药学。电话:022-23340123-5104。E-mail:jjeyi789@126.com

(收稿日期:2015-02-09 修回日期:2015-06-17)

(编辑:余庆华)

甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物作为一种新型的丙烯酸树脂,具有理化性质稳定、无毒、无刺激性、不被人体吸收等诸多优点^[1-2],可广泛用于药物制剂领域,作为缓、控释制剂的包衣材料^[3-6]。其有关物质主要为甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯的单体成分。为有效控制甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物的质量,本试验建立了以高效液相色谱(HPLC)法测定其中甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯两种单体成分含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括G1314A可变波长检测器(VWD)、ChemStation色谱工作站等(美国Agilent公司);e2695型HPLC仪,包括2489可变波长检测器、Empower色谱工作站等(美国Waters公司);CP225D型电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

甲基丙烯酸对照品(批号:190011-120801)、丙烯酸乙酯对照品(批号:190018-120921)、3批甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物样品(批号:20111204、20111205、20111206)及1批甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物仿制品均由天津某制药公司提供;试剂均为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-磷酸盐缓冲液(取含十二个结晶水的磷酸氢二钠8.953 g、磷酸二氢钾3.400 g,加水溶解并稀释至1000 ml,用稀磷酸调pH至2.0)(30:70, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:202 nm;柱温:20℃;进样量:20 μl^[7-8]。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯对照品各约10 mg,置于同一100 ml量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取10 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀;精密量取50 ml,精密加入水25 ml,摇匀,作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液10 ml,置于50 ml量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品约2 g,置于100 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取50 ml,精密加水25 ml,摇匀,即得。

2.2.3 空白对照溶液 精密量取50 ml甲醇置于100 ml量瓶中,精密加水25 ml,摇匀,即得。

2.3 系统适用性和专属性试验

取“2.2”项下的空白对照溶液、对照品溶液和供试品溶液各适量,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可见,甲基丙烯酸峰与丙烯酸乙酯峰在该色谱条件下可有效分离,分离度大于1.5;理论板数按甲基丙烯酸峰计算不低于1000;空白对照不干扰样品中有关物质的测定。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液1、2、4、6、8、10、15 ml,置于50 ml量瓶中,加甲醇-水(2:1, V/V)稀释制成质量分数分别为0.001%、0.002%、0.004%、0.006%、0.008%、0.010%、0.015%的系列溶液。分别精密量取20 μl,注入HPLC仪,记录色谱,以质量分数为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y),进行线性回归,得甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯的回归方程分别为 $y=127\ 790x-19.98$ 和 $y=102\ 548x+18\ 975$ ($r=0.999\ 4$ 、 $0.999\ 1$)。结果表明,甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯质量分数均在

0.001%~0.015%范围内均与其峰面积呈良好的线性关系。

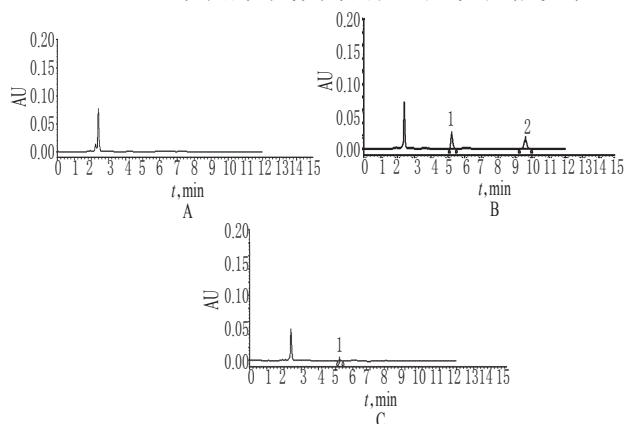


图1 高效液相色谱图

A.空白对照;B.对照品;C.供试品;1.甲基丙烯酸;2.丙烯酸乙酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A.blank control; B.reference substance; C.test sample; 1.methyl acrylic acid; 2.ethyl acrylate

2.5 检测限和定量限

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液适量,采取逐步稀释法测定,按照信噪比为3计算,甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯检测限均为0.1 μg/ml;按照信噪比10计算,甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯定量限均为0.3 μg/ml。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次。结果,甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯峰面积的RSD均小于2%,表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

2.7.1 对照品溶液 精密量取“2.2.1”项下对照品溶液适量,于室温放置0、2、4、8、25 h时分别按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,甲基丙烯酸的峰面积分别为172 425、173 297、172 911、172 600、173 103,丙烯酸乙酯的峰面积分别为157 644、157 124、156 708、153 313、153 698,RSD分别为0.2%和1.3%,表明对照品溶液在25 h内质量基本稳定。

2.7.2 供试品溶液 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液(批号:20111205),精密量取适量,于室温放置0、2、4、8、22 h时分别按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,甲基丙烯酸的峰面积分别为12 110、12 087、12 165、12 125、11 970,RSD为0.6%,丙烯酸乙酯均未检出,表明供试品溶液在22 h内质量基本稳定。

2.8 重复性试验

按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液(批号:20111206),共6份,分别精密量取20 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯含量。结果,甲基丙烯酸含量均为0.001%,丙烯酸乙酯均未检出,两者RSD均<2%,表明该方法的重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取样品(批号:20111204)约2 g,精密称定,共9份,分别置于9个100 ml量瓶中,各精密加入“2.2.1”项下对照品贮备液4、4、4、5、5、5、6、6、6 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯含量,结果详见表1。

2.10 耐用性试验

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

成分	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
甲基丙烯酸	20.00	26.67	41.22	88.33	86.59	2.3
	20.00	26.67	41.12	88.11		
	20.00	26.67	41.36	88.63		
	20.00	33.33	46.64	87.45		
	20.00	33.33	45.99	86.24		
	20.00	33.33	45.82	85.92		
	20.00	40.00	49.21	82.02		
	20.00	40.00	52.03	86.71		
	20.00	40.00	51.52	85.86		
丙烯酸乙酯	0	26.67	25.06	93.97	91.24	3.5
	0	26.67	25.33	94.99		
	0	26.67	25.58	95.91		
	0	33.33	29.93	89.80		
	0	33.33	30.67	92.02		
	0	33.33	30.15	90.45		
	0	40.00	35.02	87.54		
	0	40.00	35.62	89.04		
	0	40.00	34.98	87.44		

采用不同的厂家的仪器和色谱柱进行耐用性试验,条件1: Waters e2695型HPLC仪, Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 条件2: Agilent 1100型HPLC仪, Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。结果,本方法的耐用性良好,详见表2。

表2 耐用性试验结果(n=3)

Tab 2 Results of durability test(n=3)

批号	条件	甲基丙烯酸含量, %	丙烯酸乙酯含量, %
20111204	1	0.001	未检出
	2	0.001	未检出
20111205	1	0.001	未检出
	2	0.001	未检出
20111206	1	0.001	未检出
	2	0.001	未检出
仿制品	1	0.001	未检出
	2	0.001	未检出

2.11 样品中有关物质含量测定

分别取3批样品及1批仿制品各适量,按“2.2”项下方法制备对照品溶液和供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,采用外标法以峰面积计算甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯的含量,结果详见表3。

表3 样品中有关物质含量测定结果(n=3)

Tab 3 Results of contents determination of related substances in samples(n=3)

批号	甲基丙烯酸含量, %	丙烯酸乙酯含量, %	总量, %
20111204	0.001	未检出	0.001
20111205	0.001	未检出	0.001
20111206	0.001	未检出	0.001
仿制品	0.001	未检出	0.001

3 讨论

3.1 检测波长的选择

甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物是一种新型肠溶性包衣

材料,目前国内外均未见到其有关物质含量检测的报道。因此,在其检测波长的选择上笔者参考了2010年版《中国药典》(二部)聚甲基丙烯酸铵酯Ⅱ中有关物质检查所用的波长,最终选定202 nm作为本品有关物质检测的波长。

3.2 流动相pH的选择

由于本品的有关物质检测中涉及的组分呈酸性,因此流动相的pH对分离效果影响较明显。本试验将缓冲液pH用稀磷酸分别调制至2.0、3.0、4.0,结果pH为2.0时分离效果最佳。

3.3 杂质限度的确定

2010年版《中国药典》(二部)聚甲基丙烯酸铵酯Ⅱ有关物质检测项下提及的杂质为甲基丙烯酸、丙烯酸乙酯和甲基丙烯酸甲酯,要求总杂质不得过0.3%。本研究中3批样品及1批仿制品的有关物质含量测定结果显示,单个杂质均小于0.005%,总杂质均小于0.01%。故初步拟定本品有关物质限度为:单个杂质不得大于0.005%,总杂质不得过0.01%。

3.4 回收率的影响因素

本研究中,甲基丙烯酸和丙烯酸乙酯的平均加样回收率不高,分别为86.59%和91.24%。究其原因可能是由于:首先检测波长为202 nm,属于末端紫外吸收,氧气对测定干扰较大;其次两者的定量限均为0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$,样品中单体杂质含量很低。但两者平均加样回收率均大于80%,仍符合杂质检测回收率的有关要求。

综上所述,本方法简单、准确、重复性好,可用于甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物中有关物质的含量测定,并可为该辅料的质量标准的建立奠定基础。本研究结果表明,该共聚物性质稳定,聚合率高,有关物质符合规定。

参考文献

- [1] 袁艳波,张文云.牙科生物材料细胞毒性试验方法的研究进展[J].生物医学工程学杂志,2009,26(3):688.
- [2] 胡连栋,贾慧卿.口服药物掩味方法的研究进展[J].中国药房,2007,18(7):552.
- [3] 任国莲,张淑秋.口服结肠定位给药系统的研究进展[J].中国药物与临床,2006,6(1):8.
- [4] 尹进朝,李进,高永良.中药肠溶制剂研究进展[J].中成药,2011,33(2):315.
- [5] 欧洋,陈幼芳,邵奇,等.中药活性组分缓控释制剂的研究进展[J].浙江中医杂志,2009,44(11):845.
- [6] 姜玲,罗兴洪,姜燕,等.中药微丸的研究进展[J].中国中医药信息杂志,2006,13(8):94.
- [7] 何涛,张莉,贾晓航,等.索氏提取-反相高效液相色谱法测定人工晶状体中甲基丙烯酸甲酯单体残留量[J].理化检验化学分册,2011,47(11):1256.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:1249.

(收稿日期:2015-03-16 修回日期:2015-07-11)

(编辑:周 箐)