

顶空气相色谱法同时测定保泰松原料药中6种溶剂残留量^Δ

张西如^{1*}, 孙 婷¹, 王 琛¹, 刘 云²(1.河北省药品检验研究院, 石家庄 050011; 2.石家庄食品药品检验中心, 石家庄 050011)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)06-0780-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.06.12

摘要 目的:建立同时测定保泰松原料药中6种溶剂残留量的方法。方法:采用顶空气相色谱法。色谱柱为Agilent HP-5毛细管柱,程序升温,进样口温度为200℃,检测器为氢火焰离子化检测器,温度为250℃,载气为氮气(纯度:99.99%),载气流速为2.0 mL/min,分流比为5:1,顶空平衡温度为60℃,顶空平衡时间为30 min,顶空进样量为1 mL。结果:甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯和*N,N*-二甲基甲酰胺检测质量浓度线性范围分别为0.15~4.5 μg/mL($r=0.999\ 9$)、0.25~7.5 μg/mL($r=0.999\ 7$)、0.25~7.5 μg/mL($r=0.999\ 7$)、0.03~0.9 μg/mL($r=0.999\ 3$)、0.25~7.5 μg/mL($r=0.999\ 3$)、0.044~1.32 μg/mL($r=0.999\ 3$);检测限分别为0.05、0.08、0.08、0.01、0.08、0.015 μg/mL,定量限分别为0.15、0.25、0.25、0.03、0.25、0.044 μg/mL;精密度试验的RSD<2.0%,稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;加样回收率分别为98.75%~100.12%(RSD=0.56%, $n=9$)、98.07%~101.20%(RSD=1.12%, $n=9$)、98.36%~100.80%(RSD=0.92%, $n=9$)、98.33%~101.67%(RSD=0.98%, $n=9$)、98.11%~100.40%(RSD=0.72%, $n=9$)、98.75%~101.05%(RSD=0.89%, $n=9$)。结论:该方法操作简便、准确,精密度、稳定性、重复性、耐用性好,可用于保泰松原料药中6种溶剂残留量的同时测定。

关键词 保泰松;顶空气相色谱法;溶剂残留量;甲醇;乙醇;异丙醇;二氯甲烷;乙酸乙酯;*N,N*-二甲基甲酰胺

Simultaneous Determination of Six Residual Solvents in Phenylbutazone Raw Material by Head-space GC

ZHANG Xiru¹, SUN Ting¹, WANG Chen¹, LIU Yun²(1. Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China; 2. Shijiazhuang Center for Food and Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a method for simultaneous determination of residual solvents in phenylbutazone raw material. **METHODS:** Head-space GC was adopted. The determination was performed on Agilent HP-5 capillary column by temperature programming. The temperature of injector was 200 °C, and detector was flame ionization detector with temperature of 250 °C; carrier gas was nitrogen (purity:99.99%) at the flow rate of 2.0 mL/min. The split ratio was 5:1. Headspace equilibrium temperature was 60 °C, and equilibration time was 30 min. The sample size was 1 mL. **RESULTS:** The linear range was 0.15-4.5 μg/mL for methanol ($r=0.999\ 9$), 0.25-7.5 μg/mL for ethanol ($r=0.999\ 7$), 0.25-7.5 μg/mL for isopropyl alcohol ($r=0.999\ 7$), 0.03-0.9 μg/mL for dichloromethane ($r=0.999\ 3$), 0.25-7.5 μg/mL for ethyl acetate ($r=0.999\ 3$), 0.044-1.32 μg/mL for *N,N*-dimethyl formamide ($r=0.999\ 3$), respectively. The limits of detection were 0.05, 0.08, 0.08, 0.01, 0.08, 0.015 μg/mL. The limits of quantitation were 0.15, 0.25, 0.25, 0.03, 0.25, 0.044 μg/mL. RSDs of precision test were lower than 2.0%. RSDs of stability and reproducibility tests were lower than 3.0%. The recoveries were 98.75%-100.12% (RSD=0.56%, $n=9$), 98.07%-101.20% (RSD=1.12%, $n=9$), 98.36%-100.80% (RSD=0.92%, $n=9$), 98.33%-101.67% (RSD=0.98%, $n=9$), 98.11%-100.40% (RSD=0.72%, $n=9$) and 98.75%-101.05% (RSD=0.89%, $n=9$). **CONCLUSIONS:** The method is simple, accurate, precise, stable, reproducible and durable, and can be used for simultaneous determination of 6 residual solvents in phenylbutazone raw material.

KEYWORDS Phenylbutazone raw material; Head-space GC; Residual solvent; Methanol; Ethanol; Isopropyl alcohol; Dichloromethane; Ethyl acetate; *N,N*-dimethyl formamide

国外早在第二次世界大战之后便开始使用非甾体抗炎药保泰松^[1]。在其原料药的合成过程中,可能会出现甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯和*N,N*-二甲基甲酰胺等溶剂残留^[2-4]。其中,甲醇残留可导致失明、肝病、甚至死亡;乙醇残留可导致急性肝中毒;异丙醇残留可导致中枢神经系统衰弱;二氯甲烷属于二类残留溶剂且具有一定的肝毒性;乙酸乙酯残留可导致恶心、呕

吐、腹痛、腹泻、嗜睡、昏迷甚至死亡等;*N,N*-二甲基甲酰胺残留可导致急性肝中毒^[4]。目前尚未见测定保泰松原料药中甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯和*N,N*-二甲基甲酰胺残留量的相关报道。2015年版《中国药典》(二部)并未收载此药,且保泰松原料药的质量标准多年来未见提高,现行标准仍收载于卫生部药品标准二部第五册^[5],且该标准并未对甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯和*N,N*-二甲基甲酰胺的残留量作具体要求。而原料药的质量对制剂有直接影响,故对其进行质量把控至关重要。为此,笔者在现行标准的基础上,采

^Δ 基金项目:河北省科技计划项目(No.162777106D)

* 主任药师,硕士生导师。研究方向:药品检验。电话:0311-85212009。E-mail:meshall1983@126.com

用顶空气相色谱法同时测定保泰松原料药中上述6种溶剂的残留量,旨在为该类药物质量监管提供技术支持。

1 材料

1.1 仪器

GC-2010 plus型气相色谱仪,包括氢火焰离子化检测器(FID)、HS-40型顶空自动进样器等(日本Shimadzu公司);MCM36型百万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司);XS205型十万分之一电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);SB-5200DT型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 药品与试剂

保泰松原料药(A公司,批号:20170101A,纯度:99.3%;B公司,批号:20170102B,纯度:99.6%;C公司,批号:20170103C,纯度:99.9%);甲醇对照品(批号:10914207741,纯度:≥99.9%)、乙醇对照品(批号:130106-200901,纯度:≥99.0%)、异丙醇对照品(批号:GZDD-2477,纯度:≥96.64%)、二氯甲烷对照品(批号:130107-200901,纯度:≥99.6%)、乙酸乙酯对照品(批号:141-78-6,纯度:≥99.0%)、*N,N*-二甲基甲酰胺对照品(批号:68-12-2,纯度:≥99.0%)均购自美国Merck公司;二甲基亚砜(DMSO)为色谱纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为Agilent HP-5毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm);升温程序:初始温度为40℃,保持5 min,以5℃/min的速度升温至150℃,保持5 min,再以30℃/min的速度升温至250℃,保持5 min;进样口温度:200℃;检测器:火焰离子化检测器(FID);检测器温度:250℃;载气:氮气(N₂,纯度:99.99%);流速:2.0 mL/min;分流比:5:1;顶空进样量:1 mL;顶空瓶装样量:5 mL;顶空平衡温度:60℃;顶空平衡时间:30 min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密量取甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、*N,N*-二甲基甲酰胺对照品适量,分别置于10 mL量瓶中,加DMSO-水(50:50, V/V,下同)使溶解并定容,摇匀,制成质量浓度分别为1.5、2.5、2.5、0.3、2.5、0.44 mg/mL的单一对照品溶液。再分别量取上述单一对照品溶液各1 mL,置于同一100 mL量瓶中,加DMSO-水使溶解并定容,摇匀,即得混合对照品溶液。

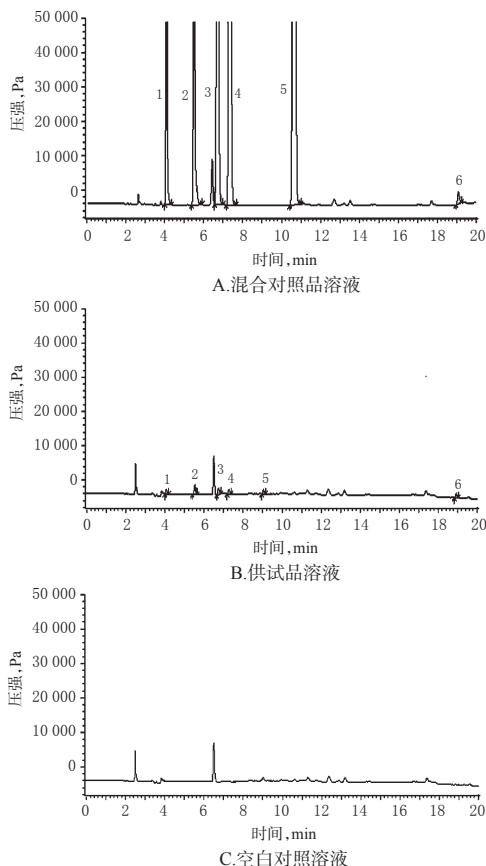
2.2.2 供试品溶液 取保泰松原料药适量,精密称定,置于20 mL顶空瓶中,加DMSO-水使溶解并定容,制成质量浓度为10 mg/mL的溶液,即得供试品溶液。

2.2.3 空白对照溶液 取DMSO-水适量作为空白对照溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和

空白对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,在该色谱条件下,各待测成分间、待测成分与杂质峰间均能达到基线分离,分离度大于1.5,其他成分对待测成分的测定无干扰,理论板数以甲醇峰计为8 976,详见图1。



注:1.乙醇;2.甲醇;3.异丙醇;4.二氯甲烷;5.乙酸乙酯;6. *N,N*-二甲基甲酰胺

Note: 1. ethanol; 2. methanol; 3. isopropyl alcohol; 4. dichloromethane; 5. ethyl acetate; 6. *N,N*-dimethyl formamide

图1 气相色谱图

Fig 1 GC chromatograms

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0 mL,置于10 mL量瓶中,加DMSO-水使溶解并定容,摇匀,制成系列混合对照品溶液。精密量取上述系列混合对照品溶液各1 mL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各待测成分质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

2.5 检测限与定量限考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,等倍逐步稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为3:1时,得检测限;当信噪比为10:1时,得定量限,结果见表1。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液1 mL,置于

表1 线性关系考察结果

Tab 1 Results of linear range investigation

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg/mL	检测限, μg/mL	定量限, μg/mL
甲醇	y=0.832 5x+0.000 6	0.999 9	0.15~4.5	0.05	0.15
乙醇	y=0.592 5x+0.025 3	0.999 7	0.25~7.5	0.08	0.25
异丙醇	y=0.616 5x+0.019 5	0.999 7	0.25~7.5	0.08	0.25
二氯甲烷	y=0.892 2x-0.001 3	0.999 3	0.03~0.9	0.01	0.03
乙酸乙酯	y=0.595 0x+0.023 9	0.999 3	0.25~7.5	0.08	0.25
N,N-二甲基甲酰胺	y=1.026 4x-0.002 7	0.999 3	0.044~1.32	0.015	0.044

10 mL 量瓶中,加 DMSO-水使溶解并定容,摇匀,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯和N,N-二甲基甲酰胺峰面积的RSD分别为1.49%、0.15%、0.14%、1.55%、0.20%、1.87%(n=6),表明仪器精密性良好。

2.7 稳定性试验

精密量取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20170101A)适量,分别于室温下放置0、1、2、4、6、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、N,N-二甲基甲酰胺峰面积的RSD分别为1.5%、1.6%、1.4%、1.7%、1.8%、1.3%(n=6),表明供试品溶液在室温下放置8 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取同一批原料药样品(批号:20170101A)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、N,N-二甲基甲酰胺峰面积的RSD分别为0.48%、0.09%、0.11%、1.78%、0.11%、1.00%(n=6),含量的平均值分别为0.003、0.004、0.004、0.004、0.001、0.002 μg/g,表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取原料药样品(批号:20170101A)适量,共9份,每份约50 mg,分别置于10 mL量瓶中,各加入低、中、高质量的待测成分对照品,加DMSO-水使溶解并定容,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

2.10 耐用性试验

2.10.1 色谱柱考察 精密称取原料药样品(批号:20170102B)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别设置毛细管柱为DB-5(30 m×0.32 mm,0.25 μm)、AT-5(30 m×0.32 mm,0.25 μm)、HP-5(30 m×0.32 mm,0.25 μm),再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品残留量,结果见表3。结果表明,色谱柱发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,提示耐用性良好。

2.10.2 顶空平衡温度考察 精密称取原料药样品(批号:20170102B)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶

表2 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 2 Results of recovery tests(n=9)

待测成分	取样量, mg	样品含量, μg/g	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回 收率, %	RSD, %			
甲醇	50.04	30.00	1.20	2.69	98.75	99.41	0.56			
	50.05	30.00	1.20	2.69	98.83					
	50.03	30.00	1.20	2.69	98.75					
	50.02	30.00	1.50	2.69	99.20					
	50.01	30.00	1.50	2.69	99.53					
	50.05	30.00	1.50	2.70	99.47					
	50.06	30.00	1.80	2.70	100.00					
	50.02	30.00	1.80	2.70	100.00					
	50.03	30.00	1.80	2.70	100.12					
	乙醇	50.01	40.00	1.60	3.19			99.05	99.71	1.13
		50.03	40.00	1.60	3.20			99.70		
		50.06	40.00	1.60	3.19			98.75		
50.03		40.00	2.00	3.21	100.88					
50.04		40.00	2.00	3.22	101.20					
50.05		40.00	2.00	3.22	101.16					
50.03		40.00	2.40	3.19	99.16					
50.04		40.00	2.40	3.19	99.42					
50.03		40.00	2.40	3.18	98.07					
异丙醇		50.04	40.00	1.60	3.20	99.85	99.49	0.92		
		50.03	40.00	1.60	3.19	99.40				
		50.03	40.00	1.60	3.19	99.25				
	50.01	40.00	2.00	3.20	100.24					
	50.02	40.00	2.00	3.21	100.52					
	50.02	40.00	2.00	3.21	100.80					
	50.02	40.00	2.40	3.18	98.36					
	50.03	40.00	2.40	3.18	98.44					
	50.02	40.00	2.40	3.18	98.58					
	二氯甲烷	50.03	40.00	1.60	3.22	101.67			99.52	0.98
		50.03	40.00	1.60	3.19	99.17				
		50.02	40.00	1.60	3.19	98.75				
50.03		40.00	2.00	3.19	99.00					
50.03		40.00	2.00	3.19	99.33					
50.03		40.00	2.00	3.18	98.33					
50.04		40.00	2.40	3.21	100.30					
50.03		40.00	2.40	3.20	99.70					
50.03		40.00	2.40	3.19	99.39					
乙酸乙酯		50.02	10.00	0.40	1.71	100.40	99.09	0.72		
		50.01	10.00	0.40	1.70	99.90				
		50.01	10.00	0.40	1.69	99.35				
	50.01	10.00	0.50	1.68	98.52					
	50.02	10.00	0.50	1.69	98.84					
	50.02	10.00	0.50	1.69	99.12					
	50.04	10.00	0.60	1.68	98.11					
	50.03	10.00	0.60	1.68	98.51					
	50.06	10.00	0.60	1.69	99.02					
	N,N-二甲基甲酰胺	50.04	20.00	0.80	2.19	99.20			99.72	0.89
		50.03	20.00	0.80	2.19	98.95				
		50.06	20.00	0.80	2.19	98.75				
50.05		20.00	1.00	2.20	99.57					
50.03		20.00	1.00	2.19	99.18					
50.07		20.00	1.00	2.19	99.20					
50.05		20.00	1.20	2.21	101.05					
50.03		20.00	1.20	2.21	100.87					
50.03		20.00	1.20	2.21	100.66					

液,分别设置顶空平衡温度为59、60、61℃,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品残留量,

结果见表3。结果表明,顶空平衡温度发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,提示耐用性良好。

表3 耐用性试验结果

Tab 3 Results of durability tests

色谱条件	设置	甲醇		乙醇		异丙醇		二氯甲烷	
		含量, 平均值, μg/g	μg/g	含量, 平均值, μg/g	μg/g	含量, 平均值, μg/g	μg/g	含量, 平均值, μg/g	μg/g
色谱柱	DB-5	20	30	50	50	30	30	60	50
	AT-5	40		60		40		50	
	HP-5	20		30		20		30	
顶空平衡温度	59 °C	50	40	40	30	10	20	50	40
	60 °C	20		30		20		30	
	61 °C	40		20		40		40	
流速	1.9 mL/min	60	40	10	30	30	40	40	40
	2.0 mL/min	20		30		20		30	
	2.1 mL/min	40		50		60		50	
柱温(初始温度)	39 °C	70	40	60	40	40	40	20	30
	40 °C	20		30		20		30	
	41 °C	30		20		50		50	

2.10.3 流速考察 精密称取原料药样品(批号:20170102B)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别设置流速为1.9、2.0、2.1 mL/min,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品残留量,结果见表3。结果表明,流速发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,提示耐用性良好。

2.10.4 柱温(初始温度)考察 精密称取原料药样品(批号:20170102B)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别设置柱温(初始温度)为39、40、41 °C,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品残留量,结果见表3。结果表明,柱温(初始温度)发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,提示耐用性良好。

2.11 样品中残留溶剂量测定

取3批原料药样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、*N,N*-二甲基甲酰胺的残留量,测定结果见表4(表中,“-”为未检出)。

表4 样品中残留溶剂量测定结果($n=3, \mu\text{g/g}$)

Tab 4 Results of residual determination($n=3, \mu\text{g/g}$)

样品批号	甲醇	乙醇	异丙醇	二氯甲烷	乙酸乙酯	<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺
20170101A	30	40	40	40	10	20
20170102B	20	30	20	30	-	-
20170103C	10	30	20	20	-	-

3 讨论

3.1 需要考察原料残留溶剂的原因

在原料药合成工艺中,选择适当的溶剂可提高产量或决定药物的性质(如晶型、纯度、溶解速率等)^[6]。因此,有机溶剂在药物合成反应中是必不可少且非常关键的物质。当药物所含的残留溶剂水平高于安全值时,就会对人体或环境产生危害,因此对残留溶剂的控制已越来越受到人们的关注。像保泰松这种可由多种合成路线合成的药物,更有可能因不同原料生产厂家合成而

产生不同的残留溶剂^[9],故本研究根据其合成路线,采用一种检测手段尽可能多地考察多种残留溶剂的残留量,能更加准确、有效地检验不同生产厂家保泰松原料药的溶剂残留量,为其质量控制提供了有效技术支持。

3.2 进样方式的选择

本试验待测成分均为低沸点溶剂,虽然直接进样相比顶空进样操作简单,但是待测样品在高温条件下可能分解出挥发性产物而干扰测定结果,故本试验采用顶空进样方式^[7-8]。

3.3 色谱柱的选择

本研究前期分别选用HP-5、AT-5、DB-624、HP-1301、DB-1701、HP-210和DB-Wax不同极性毛细管柱进行试验,发现当采用弱极性毛细管柱HP-5进行分离时,分离效果最好,峰形最尖锐且对称,灵敏度较高,故本试验选用弱极性毛细管柱中常用的HP-5毛细管柱为色谱柱。

3.4 溶剂的选择

保泰松原料药的水溶性较差,若用水作溶剂某些残留有机溶剂可能会包埋在未溶解的固态保泰松样品中,导致其检测结果不够精确,故不宜选择水作为溶剂。保泰松原料药在DMSO中溶解性好,如果单使用DMSO作为溶剂,对线性和回收率等定量结果并无影响,但检测限依赖于使用的溶剂,通常非极性待测物溶解于极性最大的基质(水)中,可获得最低的检测限^[6]。由此可见,如果以DMSO-水作为溶剂进行顶空进样,检测限比用纯DMSO低10倍,且灵敏度更高^[6],故本试验选择DMSO-水(50:50, *V/V*)作为溶解样品的溶剂及稀释剂。

3.5 色谱条件的筛选

甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、*N,N*-二甲基甲酰胺均为中、低沸点的有机挥发性溶剂。顶空气相色谱法的原理是通过加热装置将样品中可挥发组分气化,使用该方法测定时可避免挥发性成分的损失^[4]。因此,本研究参考相关文献^[9-12],选择灵敏度高的顶空气相色谱法进行保泰松原料药中6种残留溶剂的测定。通过本研究,初步拟订甲醇不得超过0.3%、乙醇不得超过0.5%、异丙醇不得超过0.5%、二氯甲烷不得超过0.06%、乙酸乙酯不得超过0.5%和*N,N*-二甲基甲酰胺不得超过0.088%。经以上方法学验证,可证明该气相色谱条件具有良好的系统适用性。

3.6 含量测定结果分析

甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、*N,N*-二甲基甲酰胺的含量测定结果均低于参考文献^[6]中规定的限度;3批样品6个成分含量存在一定的差异,其中有2批样品乙酸乙酯、*N,N*-二甲基甲酰胺均未检出。

综上,本法适合测定保泰松原料药中甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、*N,N*-二甲基甲酰胺的含量。

参考文献

- [1] 郎继芳,丰剑吾,严国涌,等.保泰松合成方法的研究[J].药学学报,1966,13(1):10.

HPLC法同时测定桂枝加芍药汤中8种成分的含量^Δ

韩真真*, 邵长森, 张元元, 王绍花, 刘 莉, 林桂涛, 盛华刚[#](山东中医药大学药学院, 济南 250355)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)06-0784-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.06.13

摘要 目的:建立同时测定桂枝加芍药汤中芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为235 nm(0~35 min,芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷)、280 nm(35~65 min,甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚),柱温为25 ℃,进样量为20 μL。结果:芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚检测质量浓度线性范围分别为2.125~34.000 μg/mL($r=0.999\ 9$)、28.700~459.200 μg/mL($r=0.999\ 7$)、3.675~58.800 μg/mL($r=0.999\ 7$)、1.235~19.760 μg/mL($r=0.999\ 8$)、2.300~36.800 μg/mL($r=0.999\ 8$)、0.955~15.280 μg/mL($r=0.999\ 7$)、36.000~576.000 μg/mL($r=0.999\ 7$)、1.500~24.000 μg/mL($r=0.999\ 7$);定量限分别为0.135、0.102、0.096、0.033、0.013、0.023、0.663、0.198 μg/mL,检测限分别为0.041、0.031、0.029、0.010、0.004、0.007、0.201、0.059 μg/mL;精密密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%($n=6$);加样回收率分别为97.47%~100.76%(RSD=1.33%, $n=6$)、98.15%~103.50%(RSD=1.82%, $n=6$)、95.65%~100.84%(RSD=2.38%, $n=6$)、96.75%~100.32%(RSD=1.31%, $n=6$)、95.88%~102.75%(RSD=2.52%, $n=6$)、95.63%~100.63%(RSD=2.00%, $n=6$)、96.78%~100.45%(RSD=1.35%, $n=6$)、95.71%~100.48%(RSD=1.80%, $n=6$)。结论:该方法准确、可靠,专属性好,可用于同时测定桂枝加芍药汤中8种成分的含量。

关键词 桂枝加芍药汤;高效液相色谱法;含量测定;芍药内酯苷;芍药苷;甘草苷;甘草素;肉桂酸;桂皮醛;甘草酸铵;6-姜酚

Simultaneous Determination of 8 Ingredients in Guizhijiaoshao Yao Decoction by HPLC

HAN Zhenzhen, SHAO Changsen, ZHANG Yuanyuan, WANG Shaohua, LIU Li, LIN Guitao, SHENG Huagang (College of Pharmacy, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, liquiritigenin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, ammonium glycyrrhetate and 6-ginger phenol in Guizhijiaoshao Yao decoction. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Kromasil C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were 235 nm (0-35 min, albiflorin, paeoniflorin, liquiritin), 280 nm (35-65 min, liquiritigenin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, ammonium glycyrrhetate and 6-ginger phenol). The column temperature was 25 ℃, and the sample size was 20 μL. RESULTS: The linear range of albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, liquiritigenin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, ammonium glycyrrhetate and 6-ginger

- [2] 闫丽,岳崇兵,李厚明.保泰松的合成工艺研究[J].市场调研,2015,1(1):11-12.
- [3] 曹琳琳.保泰松的合成新工艺及其衍生物的合成研究[D].郑州:郑州大学,2007.
- [4] 姜建国,孙婷,郭永辉,等.顶空气相色谱法同时测定比沙可啶原料药中2种溶剂残留量[J].中国药房,2016,27(30):4297-4299.
- [5] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:二部:五册[S].1996:64-65.
- [6] 国家药典委员会.中国药典分析检测技术指南[S].北京:中国医药科技出版社,2017:410.
- [7] 李眉,李玉楠.简介 ICH 关于药品中溶剂残留的指导原

- 则[J].中国药师,1998,1(3):119-120.
- [8] 刘葵葵,邓玉晓,邢学敏,等.顶空气相色谱法同时测定法匹拉韦原料药中5种有机溶剂的残留量[J].中国药房,2017,28(24):3415-3418.
- [9] 孙悦,王卫,唐素芳.顶空气相色谱法测定盐酸帕罗西汀中残留的有机溶剂及基质效应考察[J].药物分析杂志,2010,30(5):963-967.
- [10] 汪斌,郑璐,姚仲青,等.顶空气相色谱法测定胡黄连苷Ⅱ原料药中7种有机溶剂残留量[J].中国药房,2015,26(27):3859-3861.
- [11] 吴朝华,王秀梅,顾保明.顶空毛细管气相色谱法测定盐酸丁卡因原料药中的残留溶剂[J].药物分析杂志,2011,31(6):1188-1192.
- [12] 张晶蓉.顶空气相色谱法测定富马酸喹硫平的残留溶剂[J].天津药学,2015,27(5):17-19.

(收稿日期:2018-04-19 修回日期:2019-02-02)

(编辑:余庆华)

^Δ 基金项目:山东省重点研发计划项目(No.2016CYJS08A01-10)
* 硕士研究生。研究方向:中药新制剂新技术。E-mail:18364168544@163.com

[#] 通信作者:副教授,博士。研究方向:中药新制剂新技术。E-mail:shenghuagang@sina.com