

按白消安计为18730。阴性对照色谱图在白消安峰位置无假阳性峰。

3 结果

3.1 线性关系考察 取白消安对照品约12mg精密称定,置25mL量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,作为对照品溶液。精密吸取5、8、10、12和15 μ L进样,记录峰面积,取其对数与对照品的浓度进行回归,得 $Y = 14.785X + 0.578, r = 0.9999$ 。结果白消安在0.25~0.75mg/mL范围内呈良好的线性关系。

3.2 精密度试验 精密量取3.1项下的对照品溶液重复进5次,每次10 μ L,测得RSD值为0.57%。

3.3 稳定性试验 同一样品(批号20050401)溶液,分别放置0、2、4、8、12h精密称取10 μ L进样,测得RSD值为0.92%。

3.4 专属性试验 取3.1项下的溶液些许,分别加6mol/L盐酸溶液,6mol/L氢氧化钠溶液,30%双氧水破坏和100 $^{\circ}$ C水浴1h。依法操作,分别精密吸取10 μ L进样。结果,主峰与降解峰分离效果很好,该方法专属性好。

3.5 回收率试验 精密称取已知白消安含量的样品(批号20050102)5份,分别加入白消安对照品适量,按2.2.2项下方法制备样品溶液,进行测定。见表1。

表1 白消安分析方法回收率试验(n=5)

样品含量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
19.8	20.1	39.6	98.51		
22.3	22.5	44.5	98.67		
24.7	25.7	50.5	100.39	99.01	0.79
26.9	27.2	53.6	98.16		
29.6	30.4	59.8	99.34		

3.6 样品的含量测定 精密吸取对照品溶液8、10和12 μ L进样,取峰面积的对数和溶液浓度回归,计算标准曲线。精密吸取样品溶液10 μ L,进样,取峰面积的对数,按标准曲线计算溶液的浓度及样品含量,即得。结果见表2。

表2 白消安片的含量测定结果(标示量%)

批号	HPLC-ELSD	药典法
20050401	103.4	100.3
20050402	100.2	98.6
20050403	101.3	98.9

4 讨论

4.1 样品溶剂的选择 由于白消安在丙酮中溶解度大,所以在样品溶液制备时用的是丙酮。虽然不是用流动相制备的,但在测定中无影响。

4.2 流动相的选择 通过改变乙腈、水和甲醇的比

例,最后确定以水:乙腈=75:25作流动相。

4.3 HPLC-ELSD法 在应用中出现的准确度差,线性关系不好的问题,在本实验中并未出现。笔者认为原因主要有两方面①实验仪器:本实验中的高效液相仪为自动进样型的,可以基本消除进样误差;蒸发光散射检测器为法国迪马公司生产的,性能较好;色谱柱为日本岛津公司生产的。②色谱条件:在该色谱条件下,白消安的峰形很好(理论塔板数为18730),对测定很有帮助。

4.4 由于药典法(滴定法)专属性差,笔者考虑可以用此方法进行制剂的含量测定。

参考文献:

[1] 中国药典2005年版.二部[S].2005.133.

收稿日期:2005-07-08

气相色谱法测定异丙基安替比林中的残留溶剂

王梅,王建华,白秀萍(山东省淄博市药品检验所,山东淄博255040)

摘要 目的:采用顶空进样气相色谱法测定异丙基安替比林中残留甲醇、乙醇、丙酮的残留量。**方法:**使用配置顶空进样器的气相色谱仪,选择固定相为6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷、膜厚为3.0 μ m,0.53mm

作者简介:王梅(1969-),女,大学,理学学士,主管药师。
Tel:(0533)2186453, E-mail:xiaohbg@sina.com.

$\times 30$ m的色谱柱,以氮气为载气,顶空进样FID检测,通过外标法计算残留溶剂的含量。**结果:**异丙基安替比林

中有乙醇检出。乙醇的线性范围: $0.10 \sim 164.96 \mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9999$), 甲醇的线性范围: $0.21 \sim 164.72 \mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9999$), 丙酮的线性范围: $0.10 \sim 163.36 \mu\text{g/mL}$ ($r = 1.0000$); 定量限乙醇、甲醇均为 $0.3 \mu\text{g/mL}$, 丙酮为 $0.1 \mu\text{g/mL}$; 平均回收率甲醇为 101.0% ($RSD = 4.8\%$, $n = 6$), 乙醇为 99.89% ($RSD = 4.4\%$, $n = 6$), 丙酮为 99.85% ($RSD = 3.4\%$, $n = 6$)。结论: 本方法简便、灵敏度高、重复性好, 结果准确, 可用于异丙基安替比林原料药中有机溶剂残留量的测定。

关键词 顶空气相色谱法; 异丙基安替比林; 残留溶剂; 毛细管柱

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2006)01-0027-04

Determination of residual solvents in propyphenazone by headspace GC

WANG Mei, WANG Jian-hua, BAI Xiu-ping (Shandong Zibo Institute for Drug Control, Zibo 255040, China)

ABSTRACT Objective: To establish a method for determining residual solvents such as methanol, ethanol and acetone in propyphenazone by headspace gas chromatography. **Methods:** The GC was equipped with a headspace injector and a flame-ionization detector. A $0.53\text{mm} \times 30\text{m}$, DB-624 chromatographic column (coated with 6% cyanopropylphenyl-94% dimethyl polysiloxane) was adopted. The carrier gas was nitrogen. The assay of residual solvents were calculated according to the external standard method. **Results:** Only ethanol was found in the sample of propyphenazone. The standard curves were linear over the ranges of $0.10 \sim 164.96 \mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9999$) for ethanol, $0.10 \sim 163.36 \mu\text{g/mL}$ ($r = 1.0000$) for acetone and $0.21 \sim 164.72 \mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9999$) for methanol. The limits of quantitation were $0.3 \mu\text{g/mL}$ for methanol and ethanol, $0.1 \mu\text{g/mL}$ for acetone. The average recoveries were 101.0% ($RSD = 4.8\%$, $n = 6$) for methanol, 99.89% ($RSD = 4.4\%$, $n = 6$) for ethanol, 99.85% ($RSD = 3.4\%$, $n = 6$) for acetone. **Conclusion:** This method appeared to be sensitive, accurate, repeatable and easy to operate and was suitable for determining residual solvents of propyphenazone.

KEY WORDS propyphenazone; headspace GC; residual solvents; capillary column

异丙基安替比林为解热镇痛药。在异丙基安替比林生产过程中使用了甲醇、乙醇和丙酮等有机溶剂, 由于甲醇和丙酮属于二类溶剂, 毒性较大, 故有必要对它们的含量进行测定。笔者使用配置有顶空进样器的气相色谱仪^[1-3]对异丙基安替比林中残留的甲醇、乙醇、丙酮进行测定, 方法灵敏可靠, 重复性好, 结果准确, 适用于异丙基安替比林中残留甲醇、乙醇、丙酮的测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 6890 气相色谱仪; Agilent 7694 自动顶空进样器。

1.2 试剂 无水甲醇(天津市四友生物医学技术有限公司)、乙醇(济南试剂总厂)、丙酮(山东省化工研究院)、DMF(山东省化工研究院)、超纯水(由新华制药厂提供); 异丙基安替比林样品(新华制药厂, 批号 A: 20050101; B: 20050102; C: 20050103; D: 20050104; E: 20050105)

2 色谱条件

2.1 色谱柱 DB-624 毛细管色谱柱 ($30\text{m} \times 0.53\text{mm}$, 膜厚 $3.0 \mu\text{m}$, 固定液: 6% 氰丙基苯基-94% 二甲基聚硅氧烷); 柱温: 50°C 保持 4min, 然后以 $120^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 200°C 并保持 3min; 检测器:

FID 检测器温度: 260°C 进样温度: 140°C ; 载气: 氮气, 载气流速: $5\text{mL}/\text{min}$, 氢气: $30\text{mL}/\text{min}$, 空气: $300\text{mL}/\text{min}$ 。由外标法计算结果。自动顶空进样器条件: 炉温: 80°C , 针温: 90°C , 传输线温度 105°C ; 加热时间: 60min, 加压时间: 0.2min, 进样体积: 1.0mL 。

3 方法和结果

3.1 溶液的配制

3.1.1 空白溶液 移取 5.0mL 水、 1.0mL DMF 于 20mL 顶空瓶中, 密封。

3.1.2 标准溶液 精密量取无水甲醇 0.25mL (0.2059g)、乙醇 0.25mL (0.2062g)、丙酮 0.25mL (0.2042g) 置于已加入少量超纯水的 100mL 容量瓶中, 再加入超纯水至刻度, 摇匀得溶液 A。将 A 液用超纯水稀释 100 倍得溶液 B。取 B 液 5.0mL 于 20mL 顶空瓶中, 加入 1.0mL DMF, 密封。同法制得 6 个系列标准溶液。

3.1.3 样品配制 精密称取样品 0.1000g 于 20mL 顶空瓶中, 加入 1.0mL DMF 溶解, 然后加入 5.0mL 水, 密封。

3.1.4 依次将 6 个标准溶液、空白溶液、样品溶液放入顶空进样器中, 在 80°C 下平衡 60min。

3.2 系统适应性实验 在上述色谱条件下, 取 6 个

标准溶液连续进样,记录色谱图,计算得甲醇、乙醇、丙酮 3 种溶剂的 RSD 分别为 4.8%、4.4%、3.4%。

相邻两峰间的分离度 R 分别为 3.3、3.3、2.2。

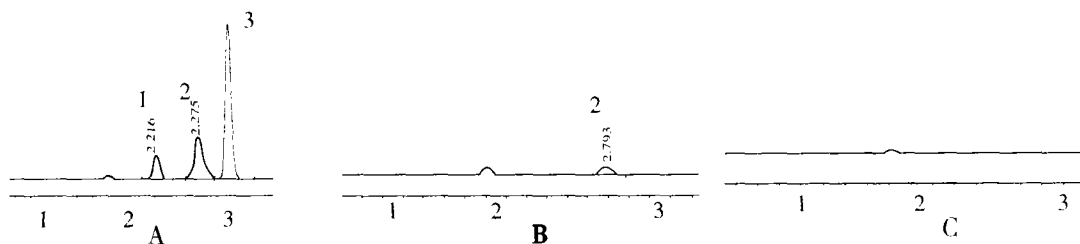


图 1 异丙基安替比林残留溶剂顶空气相色谱图

A - 对照液; B - 样品液; C - 溶剂空白; 1 - 甲醇; 2 - 乙醇; 3 - 丙酮

3.3 线性关系实验 取 3.1.2 项下配制的标准溶液 A 以超纯水稀释成一系列浓度的线性测试液(甲醇的浓度依次为 0.21、0.30、0.41、1.03、2.06、10.30、20.59、41.18、102.95、164.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$;乙醇的浓度依次为 0.10、0.20、0.31、0.41、1.03、2.06、10.31、20.62、41.24、103.10、164.96 $\mu\text{g}/\text{mL}$;丙酮的浓度依次为 0.10、0.20、0.31、0.41、1.02、2.04、10.21、20.42、40.84、102.10、163.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$),然后各取 5.0 mL 于 20mL 顶空瓶中,分别各加入 1.0mL DMF,密封后在 80 $^{\circ}\text{C}$ 恒温平衡 60min。分别进样 1.0mL,记录色谱图。以峰面积(Y)对溶液浓度(X)进行线性回归,甲醇、乙醇、丙酮的线性回归方程分别为: $Y = 4.67X + 1.35 (n = 10)$, $Y = 8.81X + 1.29 (n = 11)$, $Y = 30.25X - 1.10 (n = 11)$;相关系数 R 分别为 0.999 99, 0.999 99, 1.000 00;线性范围分别为甲醇 0.21 ~ 164.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$,乙醇 0.10 ~ 164.96 $\mu\text{g}/\text{mL}$,丙酮 0.10 ~ 163.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

乙醇的峰高约为基线噪音的 2.6 倍,丙酮峰高约为基线噪音的 3 倍。则甲醇的检测限为 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$,乙醇的检测限为 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$,丙酮的检测限为 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$,相当于样品中的含量为 2ppm、2ppm、1.5ppm。

配制含甲醇 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、乙醇 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、丙酮 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的水溶液移取 5.0mL 于 20mL 顶空瓶中,加入 1.0mL DMF,密封后于 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘 60min,取 1mL 气体顶空进样,记录色谱图。色谱图中甲醇的峰高约为基线噪音的 10 倍,乙醇的峰高约为基线噪音的 11.8 倍,丙酮的峰高约为基线噪音的 11.4 倍。则甲醇的定量限为 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$,乙醇的定量限为 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$,丙酮的定量限为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,相当于样品中的含量为 15ppm、15ppm、5ppm。

3.4 回收率测定 分别取 3.1.2 项下配制的标准溶液 A 液 0.1、0.5、1.0mL 于 100mL 容量瓶中,用超纯水稀释至刻度,得溶液 a、溶液 b、溶液 c。取溶液 a、溶液 b、溶液 c 各 5.0mL 于 20mL 顶空瓶中,各加入 0.1g 异丙基安替比林样品和 1.0mL DMF,密封。再按照样品的制备方法制备 1 份样品,作为空白。以上溶液依次放入自动顶空进样器中,在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下平衡 60min 后进样,分别记录空白、溶液 a、溶液 b、溶液 c 的色谱图;以系统适应性试验项下标准为对照,取其中甲醇、乙醇、丙酮的量和峰面积,计算加样品的溶液 a、溶液 b、溶液 c 的回收率,甲醇、乙醇、丙酮的回收率分别为:101.01%、99.89%、99.85%。

3.6 样品的测定 利用上述色谱条件对 5 批异丙基安替比林样品进行残留溶剂的测定,结果见表 1。

表 1 样品中残留溶剂的测定结果

批号	甲醇(ppm)	乙醇(ppm)	丙酮(ppm)
A	未检出	292	未检出
B	未检出	141	未检出
C	未检出	192	未检出
D	未检出	164	未检出
E	未检出	190	未检出

3.5 检测限及定量限 配制含甲醇 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、乙醇 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、丙酮 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的水溶液,移取 5.0mL 于 20mL 顶空瓶中,加入 1.0mL DMF,密封后于 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘 60min,取 1mL 气体顶空进样,记录色谱图。色谱图中甲醇的峰高约为基线噪音的 2.9 倍,

3.7 计算残留溶剂

$$\text{残留溶剂(ppm)} = \frac{A_{\text{样i}} \times W_{\text{标i}} \times 500}{A_{\text{标i}} \times W_{\text{样}}}$$

式中: $A_{\text{样i}}$: 样品色谱图中对应溶剂的出峰面积

$A_{\text{标i}}$: 标准色谱图中对应溶剂的出峰面积

$W_{\text{样}}$: 样品中各组份的称样量(g)

(下转第 34 页)

得到脂质体包裹的冬虫夏草组血清 HBeAg 及 HBV-DNA 的阴转率分别为 53.3% 和 68.4%, 显著高于非脂质体冬虫夏草组, 分别为 24.0% 和 30.0% (P 均 < 0.05)

4.4 不良反应 虫草腹腔注射的急性 LD_{50} 为 27.18g/kg, 小鼠中毒症状是先抑制后兴奋, 随后因痉挛和呼吸抑制而死亡。病理学检查还发现虫草有增高睾丸指数和生殖作用。未见有其他不良反应的报道。

5 结语

目前, 世界各个国家都投入了大量的人力、物力和财力来进行筛选抗 HBV 的药物。中医药作为我国的特色所在, 对中药治疗乙肝的研究工作已取得了一定的成绩, 试验室中抗乙肝病毒效果良好的药物层出不穷, 大体有以下几个特点: ①对乙肝病毒有效的中药种类繁多, 疗效明显, 恢复肝功能较快; ②复方制剂疗效比单方应用效果要好, 且副作用小; ③与西药相比, 价格低廉。相信不久的将来会取得更大的突破。但就目前的药物来看, 还存在一些问题: ①多数用于临床的药物近期疗效比远期疗效要好很多; ②多数临床药物的剂型为注射液, 剂型较单一; ③治疗乙肝药物的疗程较长; ④疗效不够满意; ⑤价格多较昂贵。随着生物技术的迅速发展并与祖国医药日益紧密结合, 以最佳疗效、最短疗程和最便宜用药为目的, 我们定会在中药领域开发出更多抗乙肝病毒药物, 筛选出最有效的单体, 最佳的药物配伍, 最适的药物剂量, 充分发挥中医药的优势, 找出一条治疗乙肝的新途径。

参考文献:

- [1] 沈忠源. 中医中药治疗乙肝的探讨[J]. 光明中医, 2001, 16(1):28.
- [2] 司维柯. 苦参诱导 K₅₆₂ 细胞分化的研究[J]. 中草药, 1997, 28(5):309.

- [3] 张燕军. 人参皂苷 R₁₀ 和苦参碱对 SMMC-7721 细胞周期和 DNA 含量的流式细胞仪研究[J]. 陕西中医, 1997, 18(2):93.
- [4] 王刀倩. 血清药理学方法研究探索[J]. 中药药理与临床, 1997, 13(3):29.
- [5] 蒋永光, 李认书, 金桂花. 中药提取物治疗慢性乙型肝炎的研究[J]. 四川中医, 2001, 19(3):24.
- [6] 王传力, 李春雨, 毕国春, 等. 氧化苦参碱与 α -干扰素治疗慢性乙肝疗效对比[J]. 人民军医, 2001, 44(10):593.
- [7] 李 葳, 马丽娜, 刘 娅, 等. 博尔泰力(苦参素)治疗慢性乙型肝炎临床疗效观察[J]. 宁夏医学杂志, 2001, 23(12):715.
- [8] 沈映君. 中药药理学[M]. 人民卫生出版社, 2004:362.
- [9] 仲 英, 左春旭, 李风琴, 等. 叶下珠化学成分及其抗乙肝病毒活性的研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(6):363.
- [10] 李 华. 影响叶下珠对乙型肝炎病毒疗效的因素探讨[J]. 中草药, 2000, 31(7):附 15.
- [11] 王 艳. 猪苓多糖与喃氟啶伍用对小鼠抗肿瘤及免疫功能的影响[J]. 中成药, 1996, 18(9):34.
- [12] 李立新. 猪苓多糖、乙型肝炎病毒、卡介苗对外周单个核细胞免疫活性的影响[J]. 中华内科杂志, 1995, 34(6):392.
- [13] 张昌菊. 猪苓多糖和硒诱导 LAK 细胞的研究[J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1996, 8(1):26.
- [14] 陈炎生, 周庭雄, 左建华. 猪苓多糖与重组干扰素治疗慢性乙肝对比观察[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(10):941.
- [15] 陈卓鹏, 罗群超. 猪苓多糖胶囊治疗慢性乙肝 28 例近期疗效观察[J]. 临床荟萃, 2001, 16(7):313.
- [16] 刘秀珍. 猪苓多糖注射液治疗乙型肝炎 156 例临床观察[J]. 山东医药, 1993, 33(6):27.
- [17] 陈 汇. 冬虫夏草提取物对肿瘤患者的免疫促进作用[J]. 国外医学·药学分册, 1991, 18(4):238.
- [18] 沈 敏. 冬虫夏草多糖及脂质体包埋冬虫夏草多糖对小鼠淋巴细胞表面分子的影响[J]. 上海免疫学杂志, 1991, 11(4):200.
- [19] 甘建和, 朱 翔, 赵卫峰, 等. 人工虫草治疗慢性乙型肝炎 82 例临床观察[J]. 苏州医学院学报, 2001, 21(5):557.
- [20] 邱德凯, 曾德凯, 沈 敏. 冬虫夏草多糖脂质体治疗慢性乙型肝炎的研究[J]. 中华消化杂志, 1991, 11(2):69.

收稿日期:2005-6-27

(上接第 29 页)

4 讨论

中国药典 2000 年版残留溶剂的测定采用填充柱, 用溶液法直接进样^[4], 灵敏度较低。本方法采用顶空进样技术, 对溶液中的残留溶剂具有富集作用, 能够提高检测灵敏度, 且操作简便、重复性好, 结果准确可靠, 适用于异丙基安替比林原料药中有机

溶剂残留量的测定。

参考文献:

- [1] USP25[S]. Chemical Test/ <467> Organic Volatile Impurities.
- [2] BP 2002[S]. Appendix VIII L. Residual Solvents.
- [3] EP 2000[S]. Limit tests 2. 4. 24. IDENTIFICATION AND CONTRORESIDUAL SOLVENTS.
- [4] 中国药典 2000 年版. 二部[S]. 附录 VIII: 有机溶剂残留量测定法.

收稿日期:2005-03-02