

注射用复方荭草冻干粉针剂中己内酰胺残留量检测*

鄢 艳, 谭安菊, 陈思颖, 刘丽娜, 王爱民**

(贵阳医学院 药学院, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立复方荭草冻干粉针剂中己内酰胺残留量的检测方法。方法: 采用气相色谱法, 以聚酰胺聚合单体 ϵ -己内酰胺为指标, 对复方荭草冻干粉针剂中己内酰胺残留量进行检测。结果: 三批复方荭草冻干粉针剂中均未检出己内酰胺(检出限为 $2 \mu\text{g/g}$), 故在质量标准中规定复方荭草冻干粉针剂中不得检出己内酰胺。结论: 该方法能准确检查复方荭草冻干粉针剂中己内酰胺残留量, 重复性好, 操作简便。

[关键词] 注射; 粉剂; 己内酰胺; 色谱法, 气相

[中图分类号] R927.2 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1000-2707(2011)05-0446-02

Determination of Caprolactam Residual Volume in Compound Hongcao Freeze-dried Powder Injection

YAN Yan, TAN Anju, CHEN Siying, LIU Lina, WANG Aimin

(School of Pharmacology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for limit determination of caprolactam residual volume in compound Hongcao freeze-dried powder injection with gas chromatography. **Methods:** Polyamide polymerization monomer ϵ -caprolactam was used as indicator, and its residual volume in Hongcao freeze-dried powder injection was detected experimentally with gas chromatography. The results were analyzed. **Results:** The tested results of polyamide polymerization monomer ϵ -caprolactam were responsive with the amounts added in compound Hongcao freeze-dried powder injection. In real detection, caprolactam was not detected in three batches of compound Hongcao freeze-dried powder injection (detection limit: $2 \mu\text{g/g}$). **Conclusions:** This method is accurate, reproducible and easy for testing caprolactam residual volume in compound Hongcao freeze-dried powder injection.

[Key words] compound Hongcao freeze-dried powder injection; caprolactam; chromatography, gas

注射用复方荭草冻干粉针是由民间验方研制开发的中药注射剂, 由荭草、灯盏细辛经提取加工而成, 具有化瘀通络、活血止痛的功能, 主要用于冠心病心绞痛心血瘀阻症。方中主药荭草含有鞣质, 其提取物在未经处理前鞣质检查不合格, 采用聚酰胺法不仅除鞣质效果好, 而且指标成分损失少, 还能有效的提高制剂的安全性^[1]。由于聚酰胺是由

ϵ -己内酰胺聚合而成的一类高分子物质, 其开环聚合反应平衡后的产物中仍含有一定量的单体, 对人体的眼睛和中枢神经有刺激作用, 特别是对脑干可引起实质性脏器的损害^[2~9]。因此, 本实验采用气相色谱法对复方荭草冻干粉针剂中的 ϵ -己内酰胺单体残留量进行测定, 以保证制剂的安全性。

*[基金项目] 国家自然科学基金(30860366); 省科技厅科技计划项目[(2009)4001号], 贵州省重大科技项目[黔科合重大专项字(2007)6010号], 省科技攻关项目[黔科合SY字(2009)3092号], 省科技厅科技创新人才团队项目。

** 通讯作者 E-mail: 1076707902@qq.com. E-mail: Gywam100@163.com.

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

岛津气相色谱仪(GC-14B),氢火焰离子化检测器;色谱柱 FFAP 大口径石英毛细管柱(30 m×0.53 mm,0.5 μm),OV-1701 大口径石英毛细管柱(30 m×0.53 mm,0.5 μm),氮气(99.999%),氢气(99.99%),三氯甲烷、丙酮、乙醚、乙醇等均为分析纯,ε-己内酰胺(美国 ACROS,含量>99%,CAS:105-60-2);注射用复方荭草冻干粉针,批号为 20070901、20071001 和 20071002。

1.2 溶液制备

1.2.1 对照品溶液制备 精密称取己内酰胺对照品适量,用丙酮配制成每 1 ml 含己内酰胺 10 μg 的对照品溶液。

1.2.2 供试品溶液制备 取本品 2.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加乙醚 30 ml,放置 30 min,振摇,超声处理(功率 250 W,频率 23~27 kHz)5 min,滤过,再用乙醚 20 ml 洗涤滤渣和滤纸,合并滤液,40℃减压浓缩至干,精密加丙酮 1 ml 溶解残渣,即得。

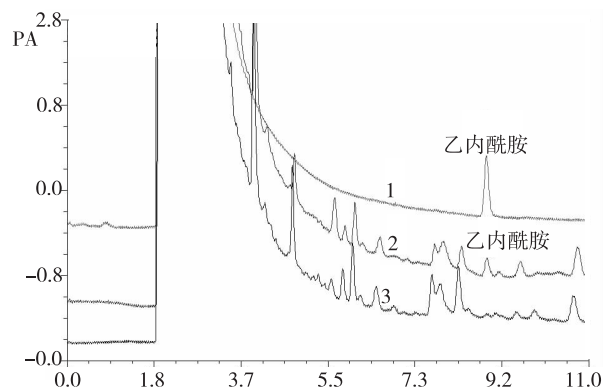
1.3 色谱条件与系统适用性试验

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 OV-1701 大口径石英毛细管柱(30 m×0.53 mm,膜厚 0.5 μm);载气为氮气,柱前压 20 kPa;进样口温度 250℃,柱温 150℃,氢火焰离子化检测器温度 280℃,氢气流速 40 ml/min,空气流速 400 ml/min,进样量 1 μl。

1.3.2 系统适用性试验 分精密别取 ε-己内酰胺对照品溶液、复方荭草冻干粉针中加入 3 μg/g 的对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 1 μl,注入气相色谱仪,测定,记录色谱图(图 1)。从图中可见,在供试品色谱中,与己内酰胺对照品色谱相同保留时间处无色谱峰,在加入己内酰胺对照品的供试品色谱中,与己内酰胺对照品色谱相同保留时间处有色谱峰,由于供试品中未检出己内酰胺,因此按限度检查进行研究。

1.4 样品测定

精密量取己内酰胺对照品溶液,用稀释成每 1 ml 含 2 μg 的对照品储备溶液;精密称取复方荭草冻干粉针成品 20070901、20071001、20071002 各 2.0 g,分别精密加入 0.1、0.2、0.3 ml 的对照品储备溶液,挥干丙酮,按供试品溶液制备方法制备。



1. 己内酰胺对照品(10 mg/L);2. 复方荭草冻干粉针中加入 3 mg/g 己内酰胺对照品;
3. 注射用复方荭草冻干粉针

图 1 复方荭草冻干粉针中己内酰胺限度检查系统适用性色谱图

Fig.1 System suitability GC figure of limit determination of caprolactam residual volume in compound Hongcao freeze-dried powder injection

2 结果

分别精密吸取对照品储备溶液和供试品溶液各 1 μl,注入气相色谱仪测定,从表 1 结果可得,复方荭草冻干粉针剂中己内酰胺检出限均为 2 μg/g(信噪比为 2~3)。故规定复方荭草冻干粉针剂中不得检出己内酰胺。

表 1 复方荭草冻干粉针剂中己内酰胺残留最小检出限测定

Tab.1 Measurement of minimum detection limit of caprolactam residual volume in compound Hongcao freeze-dried powder injection

样 品	复方荭草冻干粉针剂		
	20070901	20071001	20071002
称 量(g)	2.0032	2.0104	2.0428
加对照品储备溶液(ml)	0.1	0.2	0.3
己内酰胺含量(μg/g)	1	2	3
检出结果(S/N=2~3)	未检出	检出	检出

3 讨论

根据己内酰胺易溶于水、乙醇、丙酮、乙醚、三
(下转第 451 页)

引起了肾小管上皮细胞凋亡。

在整个实验过程中,DM 组动物血糖维持在相对稳定的高水平,不随病程进展而升高,与 Bax/Bcl-2 比值不平行;而尿蛋白在 DM 组 2 周出现并呈进行性增多,与 Bax/Bcl-2 比值呈明显正相关。Ohse 等^[7]用 40 g/L 浓度牛血清白蛋白培养肾小管上皮细胞发现,细胞出现明显的内质网应激和凋亡,这与本组实验一致。因此,可以推测,在糖尿病发病过程中,高血糖可能促进了肾小管上皮细胞 Bcl-2 和 Bax 表达,且前者高于后者,不引起细胞凋亡,但是持续高血糖引起的渗透性高滤过可造成肾小球损伤和持续蛋白尿^[8],后者抑制肾小管上皮细胞 Bcl-2 表达并促进 Bax 表达,使 Bax/Bcl-2 比值增高从而引起肾小管上皮细胞凋亡。

4 参考文献

- [1] Verzola D, Gandolfo MT, Ferrario F, et al. Apoptosis in the kidney of patients with type II diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2007(10):1262-72.
- [2] Kumar D, Zimpelmann J, Robertson S, et al. Tubular and

interstitial cell apoptosis in the streptozotocin-diabetic rat kidney[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2004(3):77-88.

- [3] 方开云, 姜晶磊, 肖瑛, 等. 转化生长因子 $\beta 1$ 和 Snail1 参与糖尿病大鼠肾小管上皮细胞向间充质细胞转变 [J]. *生理学报*, 2008(1):125-134.
- [4] Li X, Pabla N, Wei Q, et al. PKC-delta promotes renal tubular cell apoptosis associated with proteinuria [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010(7):1115-24.
- [5] Volker Vallon. The proximal tubule in the pathophysiology of the diabetic kidney [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011:1009-1022.
- [6] Yang B, Johnson TS, Thomas GL, et al. A shift in the Bax/Bcl-2 balance may activate caspase-3 and modulate apoptosis in experimental glomerulonephritis [J]. *Kidney Int*, 2002(4):1301-1313.
- [7] Ohse T, Inagi R, Tanaka T, et al. Albumin induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in renal proximal tubular cells [J]. *Kidney Int*, 2006(8):1447-55.
- [8] Ziyadeh FN, Wolf G. Pathogenesis of the podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2008(1):39-45.

(2011-07-04 收稿, 2011-09-12 修回)

(上接第 447 页)

氯甲烷和苯等溶剂的性质^[10], 采用丙酮、乙醚、三氯甲烷为提取溶剂制备供试品溶液, 试验结果表明以乙醚为提取溶剂制备的供试品溶液对样品中己内酰胺测定无干扰。

试验分别采用 FFAP 和 OV-1701 大口径石英毛细管柱对照品和复方荭草冻干粉针剂中己内酰胺进行分离测定, 两种色谱柱对复方荭草冻干粉针中己内酰胺均能有较好分离, 但由于采用 FFAP 色谱柱分离时基线不稳定, 故采用 OV-1701 色谱柱。

本实验采用气相色谱法对复方荭草冻干粉针中的 ϵ -己内酰胺单体残留量进行测定, 结果三批复方荭草冻干粉针中均未检出己内酰胺, 且方法重复性好, 操作简便, 是保证该制剂安全性的重要检测手段。

4 参考文献

- [1] 郑林, 王永林, 王爱民, 等. 注射用复方荭草冻干粉针除鞣质工艺研究 [J]. *中国中药杂志*, 2007(17): 1811-1813.
- [2] 王建华, 李铭瑜, 贺谷辉. 高效液相色谱法测定尼龙 6

样品中的环状齐聚物 [J]. *合成纤维工业*, 2000(2): 50.

- [3] 黎明. 气相色谱法测定车间空气中己内酰胺 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 1996(2): 118.
- [4] 中华人民共和国卫生部、中国国家标准化管理委员会. GB/T 14966-1994 尼龙 6 树脂及成型品中己内酰胺卫生标准的分析方法 [S]. 国家标准出版社, 1994.
- [5] 董启钧, 张本洋. 试述用气相色谱法测定聚酰胺树脂中己内酰胺残留量的方法 [J]. *医药与保健*, 2009: 262.
- [6] 粟晶. 大口径毛细管柱测定己内酰胺含量 [J]. *合成纤维工业*, 2001(3): 66.
- [7] 陶钢, 季峰. 气相色谱法毛细管柱测定水中己内酰胺 [J]. *环境监测管理与技术*, 1998(5): 28.
- [8] 杨先炯, 王爱民, 兰燕宇, 等. 气相色谱法测定聚酰胺树脂中己内酰胺残留 [J]. *时珍国医国药*, 2009(4): 877-878.
- [9] 刘俊, 李锋格, 田延河, 等. 毛细管气相色谱法测定食品包装材料中己内酰胺残留量 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2009(1): 65-66.
- [10] 王箴. 化工辞典 [M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 1979: 48.

(2011-06-22 收稿, 2011-07-12 修回)