

温度提取溶剂即处于剧烈沸腾状态, 此时提取溶剂易损失; 且温度较低, 达不到有效成分理想的提取效果。

减压提取能明显缩短提取时间, 降低能量的消耗, 利于降低生产成本; 并且提取设备简易、操作简单方便、费用低, 在中药领域中具有良好的应用前景。

## REFERENCES

- [1] CHEN X D. The principle and breakthrough point of vacuum extraction of traditional chinese medicine [J]. Mechanical and Electrical Information(机电信息), 2008, 23: 31-34.
- [2] HAN L, WEI J, ZHOU Z Y. Study on the process of vacuum extraction of fructus gardeniae [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2011, 33(1): 160-162.

- [3] Ch.P(2010)Vol I (中国药典2010年版. 一部) [S]. 2010: 343.
- [4] ZHENG H Z, DONG Z H, SHE J. Modern Study of Traditional Chinese Medicine(中药现代研究与应用) [M]. Beijing: Xue Yuan Press, 1997: 4585.
- [5] LI S O, HAO Q H, WANG C F. Study on the supersonic extraction process of flavonoids from *Ziziphi spinosae* Kernels [J]. J Anhui Agri(安徽农业科学), 2009, 37(28): 13790-13792.
- [6] WANG X L, ZHANG Y J, CHEN M X. Optimization study on extraction technology of the seed of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* by orthogonal design with multi-targets [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2005, 30(10): 753-755.
- [7] KUANG H X. Chemistry of Traditional Chinese Medicine(中药化学) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2007: 232.
- [8] CHENG X L, ZHANG W. Extraction and determination of total saponins from Semen *Ziziphi Spinosae* [J]. Shanxi J Tradit Chin Med(陕西中医), 2012, 33(5): 607-609.

收稿日期: 2012-10-22

## 甲醛、乙醛衍生化条件的探讨

吴宏伟, 袁文杰, 黄剑英(厦门市药品检验所, 福建 厦门 361012)

**摘要:** 目的 建立通过 HPLC 方法同时控制甲醛量、乙醛量的衍生化条件。方法 甲醛、乙醛与 2,4-二硝基苯肼溶液在 60 °C 水浴中加热 60 min 衍生化反应, 采用 Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以水-乙腈(45:55)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 350 nm; 柱温为 40 °C; 进样量 20 μL。结果 甲醛、乙醛衍生化物的分离度为 7.2, 甲醛的线性范围为 0.028~9.23 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 4), 平均回收率(*n*=9)为 102.6%(RSD=0.9%), 定量限为 3.7×10<sup>-6</sup> μg、检测限为 1.8×10<sup>-6</sup> μg; 乙醛的线性范围为 0.063~20.90 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 5), 平均回收率(*n*=9)为 102.0%(RSD=1.2%), 定量限为 1.1×10<sup>-4</sup> μg、检测限为 5.5×10<sup>-5</sup> μg。结论 本法准确、灵敏, 为甲醛、乙醛的安全监测提供检测依据。

**关键词:** 甲醛; 乙醛; 衍生化反应; 液相色谱; 安全监测

中图分类号: R917

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)07-0737-04

## Study on the Derivatization conditions for Formaldehyde and Acetaldehyde

WU Hongwei, YUAN Wenjie, HUANG Jianying(Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish the derivatization conditions for controlling the contents of formaldehyde and acetaldehyde by HPLC method at the same time. **METHODS** After derivatization of which formaldehyde and acetaldehyde was mixed thoroughly with the reagent solution (2,4-DNPH) and heated at 60 °C in a water bath for 60 min, the test was performed on Agilent TC-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with the mobile phase of water-acetonitrile (45:55) at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 350 nm and the column temperature was 40 °C. The injection volume was 20 μL. **RESULTS** The resolution of the mixture solution of derivatization was 7.2. The linear ranger of formaldehyde was 0.028~9.23 μg·mL<sup>-1</sup> (*r*=0.999 4), the average recovery (*n*=9) was 102.6% (RSD=0.9%), *LQD*<sub>formaldehyde</sub> was 3.7×10<sup>-6</sup> μg, *LOD*<sub>formaldehyde</sub> was 1.8×10<sup>-6</sup> μg; The linear ranger of acetaldehyde was 0.063~20.9 μg·mL<sup>-1</sup> (*r*=0.999 5), the average recovery (*n*=9) was 102.0% (RSD=1.2%), *LOQ*<sub>acetaldehyde</sub> was 1.1×10<sup>-4</sup> μg, *LOD*<sub>acetaldehyde</sub> was 5.5×10<sup>-5</sup> μg. **CONCLUSION** The method is accurate and sensitive. The study may provide a basis for the safety monitoring of formaldehyde and acetaldehyde.

**KEY WORDS:** formaldehyde; acetaldehyde; derivatization reaction; HPLC; safety monitoring

作者简介: 吴宏伟, 女, 副主任药师

Tel: (0592)5619836

E-mail: wennie621@163.com

甲醛是一种原生质毒素，它对人体中枢神经系统及视网膜有刺激作用，对人体的肝脏、心肌、肺和肾脏有神经毒性，可诱发白血病，并具有潜在的致癌作用；乙醛的一般毒性表现为对皮肤有直接刺激作用，并可导致心跳频率加快、毛细血管扩张，进入血液中产生嗜酒样作用。甲醛、乙醛杂质经常出现在含有乙醇的注射液制剂中，应建立有效的检测方法进行安全监控。

曾有报导过甲醛的衍生化测定方法，但未见甲醛、乙醛同时测定的衍生化方法。本实验对甲醛、乙醛同时测定进行了方法学优化，同时对其液相色谱方法进行方法学论证。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)，色谱柱为 Agilent TC-C<sub>18</sub> 键合硅胶柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)；Mettler Toledo XS105 电子天平(瑞士梅特勒公司)；HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

2,4-二硝基苯肼(2,4-DNPH)(上海试剂三厂生产，分析纯)、甲醛标准溶液(国家标准物质中心，RM-24, 100 μg·mL<sup>-1</sup>)、乙醛标准溶液(国家标准物质中心，批号：11583，纯度：40%)；乙腈为色谱纯；样品共 9 批聚桂醇 400 注射液：规格 0.5% 的 3 批(批号为 24318, 28118, 33418)，规格 1.5% 的 3 批(批号为 12318, 26018, 29218)，规格 3% 的 3 批(批号为 11018, 27118, 05428)，由厦门市药品检验所提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件及系统适用性试验

采用 Agilent TC-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)；流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>；流动相：水-乙腈(45 : 55)；检测波长 350 nm；柱温为 40 °C；进样量 20 μL。

系统适用性试验：甲醛胺峰和乙醛胺峰的分度应大于 3，甲醛胺峰、乙醛胺峰的拖尾因子不得过 2.0。

### 2.2 样品衍生化试验<sup>[1]</sup>

**2.2.1 对照储备溶液的制备** 取甲醛、乙醛对照品适量，加超纯水溶解并定量稀释制成每 1 mL 中含甲醛 46.17 μg，乙醛 104.50 μg 的溶液，作为对照储备溶液(1)。

**2.2.2 实验方法** 精密量取对照储备溶液(1)适量，加超纯水定量稀释制成每 1 mL 中含甲醛 0.55 μg、乙醛 1.25 μg 的溶液，作为对照储备溶液(2)。分别精密量取甲醛、乙醛对照储备溶液(2)各

2 mL，置 10 mL 的量瓶中，加 2,4-二硝基苯肼试液 2 mL [临用新制：取 2,4-二硝基苯肼(2,4-DNPH) 24 mg，加盐酸 4 mL 溶解，加水至 50 mL]，用水稀释至刻度，摇匀。在 60 °C 水浴中加热 60 min，冰浴中冷却至室温，取出迅速滤过，取续滤液作为对照品溶液，置于 4 °C 冰箱保存备用。

**2.2.3 方法优化<sup>[2]</sup>** 通过对衍生化反应温度及反应时间进行优化实验，结果表明，甲醛在 40 °C 水浴中加热 20 min 反应完全，升高水浴温度和增加反应时间对其均无影响；乙醛在 50 °C 水浴中加热 80 min 或 60 °C 水浴中加热 40 min 可达到反应完全；经优化后同时测定甲醛、乙醛的衍生化条件为“在 60 °C 水浴中放置 60 min”。

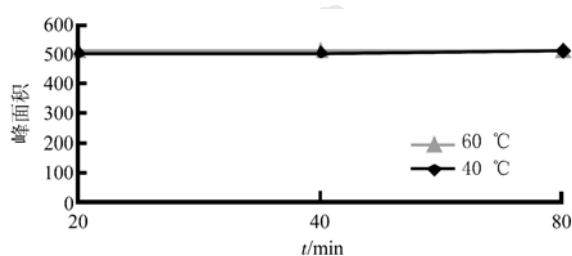


图 1 甲醛衍生化反应曲线  
Fig 1 The derivatization reaction curve of formaldehyde

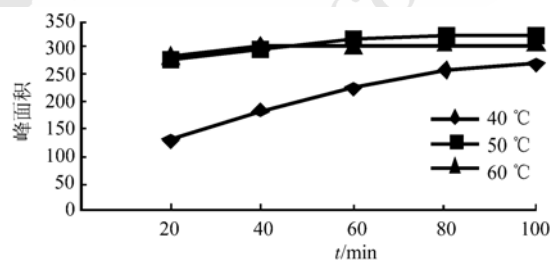


图 2 乙醛衍生化反应曲线  
Fig 2 The derivatization reaction curve of acetaldehyde

**2.2.4 耐用性考察** 通过选用三个品牌的色谱柱对色谱条件进行优化，结果表明，甲醛、乙醛经过衍生化反应后对色谱柱的耐用性较强，结果见表 1。

**2.2.5 线性关系考察** 精密量取“2.2.1”项下甲醛、乙醛对照储备溶液(1)适量，加水逐级稀释制成适宜浓度的梯度对照储备溶液，再各取 2 mL，置 10 mL 量瓶中，加 2,4-二硝基苯肼试液 2 mL，照“2.2.2”项下方法进行衍生化反应，制成相应浓度的线性溶液，按“2.1”项下的色谱条件进行测定，以峰面积 A 对浓度 C 进行线性回归，得各自的线性方程分别为： $A_{\text{甲醛}}=334.99C_{\text{甲醛}}-33.221$ ， $r=0.9994(n=6)$ ； $A_{\text{乙醛}}=154.78C_{\text{乙醛}}-36.916$ ， $r=0.9989(n=6)$ 。

表 1 色谱柱考察

Tab 1 The study of the chromatographic column

色谱柱型号	分离度		理论板数		拖尾因子	
	甲醛脎与 2,4-二硝基苯肼	甲醛脎与乙醛脎	甲醛脎	乙醛脎	甲醛脎	乙醛脎
Agilent TC-C <sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm)	14.1	7.2	19 142	12 485	1.1	0.9
phenomenex Luna C <sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm)	8.1	4.6	5 073	4 718	1.0	1.1
Kromasil C <sub>18</sub> (4.6 mm×150 mm, 5 μm)	11.4	7.0	11 259	9 345	1.1	1.1

结果表明, 甲醛和乙醛的量分别在 0.028~9.23 μg·mL<sup>-1</sup>、0.063~20.90 μg·mL<sup>-1</sup> 内呈良好线性关系。

**2.2.6 重复性试验** 分别取 6 份样品溶液各 5 mL, 分别置 10 mL 的量瓶中, 再各加入 2,4-二硝基苯肼试液 2 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀。其余照“2.2.2”项下的方法进行衍生化反应。结果表明, 6 份供试品溶液中甲醛、乙醛测定结果的 RSD 分别为 0.6%, 0.7%。

**2.2.7 空白干扰试验** 取除去主药、乙醇的空白辅料适量, 按比例配制成辅料溶液, 精密量取溶液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 2,4-二硝基苯肼试液 2 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀。其余照“2.2.2”项下的方法进行衍生化反应, 按照“2.1”项下液相色谱条件进行测定, 结果显示, 空白辅料对测定无干扰。色谱图见图 3。

**2.2.8 检测限与定量限测定** 取“2.2.1”项下对照储备溶液(1)逐级稀释, 按“2.2.2”项下方法进行衍生化反应, 测定甲醛、乙醛的检测灵敏度。甲醛、乙醛的定量限 LOQ 分别为 3.7×10<sup>-6</sup> μg, 1.1×10<sup>-4</sup> μg, 甲醛、乙醛的最低检测限 LOD 分别为 1.8×10<sup>-6</sup> μg, 5.5×10<sup>-5</sup> μg。

**2.2.9 稳定性试验考察** 甲醛、乙醛衍生化产物常温下在 0, 6, 12, 24 h 测定的峰面积的 RSD 分别为 0.5%, 0.9%。结果说明, 甲醛、乙醛衍生化产物在 24 h 内均比较稳定。

**2.2.10 加样回收率试验** 取 9 份样品(批号: 11018)各 3 mL, 置 10 mL 的量瓶中, 另加入含甲醛(0.93 μg·mL<sup>-1</sup>)、乙醛(1.10 μg·mL<sup>-1</sup>)及混合对照溶液分别 0.8 mL(n=3), 1.0 mL(n=3), 1.2 mL(n=3), 再各加入 2,4-二硝基苯肼试液 2 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 其余照“2.2.2”项下的方法进行衍生化反应。结果测得, 甲醛、乙醛衍生化后的回收率分别为 102.6%(n=9, RSD=0.9%), 102.0%(n=9, RSD=1.2%)。

**2.3 结果**

分别取 3 种不同规格的样品各 3 批, 分别精

密度取样品 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 2,4-二硝基苯肼试液 2 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀。其余按照“2.2.2”项下的方法进行衍生化反应, 按照“2.1”项下液相色谱条件进行测定, 测定的结果见表 2 和图 3。

表 2 样品中甲醛、乙醛的测定结果

Tab 2 The content formaldehyde and acetaldehyde of samples

批号	甲醛的含量/%	乙醛的含量/%
24318	0.000 01	0.000 01
28118	0.000 01	0.000 01
33418	0.000 01	0.000 01
12318	0.000 01	0.000 01
26018	0.000 01	0.000 01
29218	0.000 03	0.000 01
11018	0.000 06	0.000 02
27118	0.000 04	0.000 03
05428	0.000 02	0.000 02

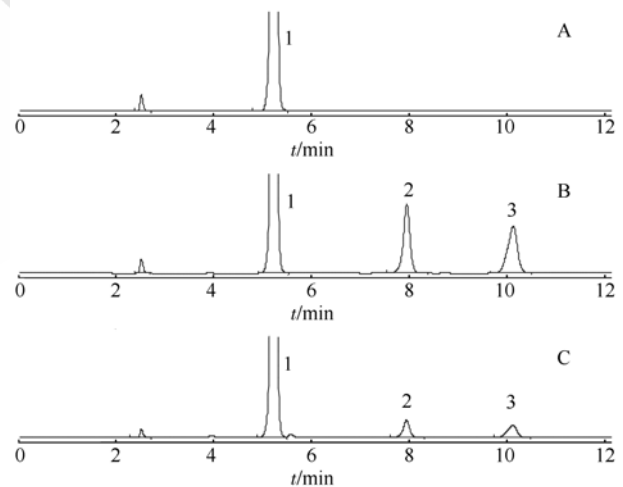


图 3 甲醛、乙醛衍生化反应液相色谱图(样品批号 11018) A-空白辅料; B-对照溶液; C-供试品溶液; 1-2,4-二硝基苯肼(5.05 min); 2-甲醛脎(7.54 min); 3-乙醛脎(9.51 min)

Fig 3 HPLC chromatograms of the derivatization of formaldehyde and acetaldehyde(batch number: 11018)

A-blank excipient; B-reference solution; C-sample solution; 1-2,4-DNPH(5.05 min); 2-formaldehyde-DNPN(7.54 min); 3-acetaldehyde-DNPN(9.51 min)

**3 讨论**

用衍生化方法同时测定甲醛、乙醛时, 衍生化温度和时间一定要保证在 60 °C 水浴中加热

60 min; 如果单独测定甲醛时, 其衍生化温度和时间可以降低, 在 40 °C 水浴中加热 20 min 即可。

甲醛、乙醛衍生化后的产物比较稳定, 可放置 4 °C 冰箱中保存备用。

聚桂醇 400 注射液处方中含有 5% 左右的乙醇, 在生产过程中易产生杂质甲醛、乙醛。美国环境保护局建议的甲醛每日容许摄入量(ADI)为 0.2 mg·kg<sup>-1</sup>(质量)<sup>[3]</sup>, 国内《生活饮用水卫生标准》中甲醛的限值为 0.9 mg·L<sup>-1</sup>; 对乙醛的安全限度值未见报导, 但乙醛是 HBV 病毒的辅致癌物已有报导<sup>[4]</sup>, 且在成品酒中企业控制乙醛的量应小于 4 mg·L<sup>-1</sup><sup>[5]</sup>。因此, 建议医药企业也应积极关注制剂中含有乙醇的注射液的醛类杂质检测。

## REFERENCES

- [1] LI D F, JIA W, et al. Determination of formaldehyde, acetaldehyde and acrolein in water by HPLC [J]. Chin Public Health(中国公共卫生), 2003, 19(12): 1511-1513.
- [2] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 194-195.
- [3] LAO M D, ZHU G Q, et al. Study on formaldehyde content in yellow rice wine [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2008, 34(12): 152-154.
- [4] CHEN C N, TAO S Y, et al. Effect of acetaldehyde on activation, proliferation and transdifferentiation of rat hepatic stellate cell hsc-t6 strain [J]. J Luzhou Med Coll (泸州医学院学报), 2011, 34(3): 217-220.
- [5] ZHAO D H. Controlling the content of acetaldehyde in the beer [N]. Beer Technology(啤酒科技), 2010-12-60(3).

收稿日期: 2012-12-25

## 氢溴酸高乌甲素亲水凝胶骨架片的制备及体外释放

高源, 李凤英, 刘玲, 李蔚雯, 何京, 钟海军\* (南昌大学药学院, 南昌 330006)

**摘要:** 目的 为了减少给药次数, 方便患者, 并提高镇痛效果, 制备氢溴酸高乌甲素亲水凝胶骨架片, 优化制剂处方, 并探讨释放机制。方法 以羟丙甲纤维素(HPMC)为骨架材料, 乳糖、微晶纤维素(MCC)、淀粉为填充剂, 硬脂酸镁为润滑剂制备氢溴酸高乌甲素骨架片, 考察各因素对药物释放度的影响, 筛选优化处方, 并拟合讨论其释放机制。结果 HPMC 的用量及分子量, 微晶纤维素和硬脂酸镁的用量对药物释放有显著影响。所制缓释片无突释现象, 缓释周期 12 h, 根据拟合方程, 药物释放符合一级释放模型, 其释放既有扩散, 又有骨架溶蚀。结论 本方法制备的氢溴酸高乌甲素缓释片工艺简单, 生产成本低, 且具有良好的释放性能。

**关键词:** 氢溴酸高乌甲素; 凝胶骨架片; 体外释放

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)07-0740-05

## Hydrophilic Matrix Sustained Release Tablets of Lappaconite Hydrobromide: Preparation and Release *in Vitro*

GAO Yuan, LI Fengying, LIU Ling, LI Weiwen, HE Jing, ZHONG Haijun\* (College of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To reduce the frequency of administration, enhance patient compliance, increase antinociceptive effect of lappaconitine hydrobromide, hydrophilic matrix sustained release tablets of lappaconitine hydrobromide were prepared. The formulations of the tablets were optimized. Then the *in vitro* release models were also evaluated in present study. **METHODS** The effects of various molecular masses and contents of HPMC(using as hydrophilic matrix), various contents of lactose(filling agent), microcrystalline cellulose(filling agent), starch(filling agent) and magnesium stearate(lubricant) on drug release from the matrix tablets *in vitro* were investigated, respectively. The *in vitro* release mechanism of the optimal formulation was discussed by fitting various models. **RESULTS** The results showed that the molecular mass and the content of HPMC, the contents of microcrystalline cellulose and magnesium stearate influenced greatly on drug release *in vitro* from the tablets. No burst drug release from the obtained matrix tablets was observed. Drug release *in vitro* sustained up to 12 h. It was better agreed

基金项目: 国家自然科学基金项目(30960466); 江西省教育厅科技项目(GJJ10311)

作者简介: 高源, 男, 硕士生 Tel: (0791)86361839 E-mail: qdgaoyuan911@126.com \*通信作者: 钟海军, 男, 博士, 副教授 Tel: (0791)86361839 E-mail: zhonghj@ncu.edu.com