

HPLC 测定卡波姆共聚物中残留的丙烯酸含量

张朝阳, 闫中天, 杨锐, 孙会敏* (中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 目的 采用 HPLC 测定卡波姆共聚物中残留的丙烯酸含量。方法 使用 Sepax GP-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 分离, 流动相为磷酸二氢钾-甲醇(8:2), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 200 nm, 柱温为 30 °C。结果 卡波姆共聚物中的残留丙烯酸可达到满意的分离, 丙烯酸浓度在 0.327 5~32.75 μg·mL⁻¹ 内有良好的线性关系($r=0.999\ 6$), 方法平均回收率为 93.02%。结论 本方法准确, 可靠, 重现性好, 可作为卡波姆共聚物中丙烯酸残留的控制方法。

关键词: 卡波姆共聚物; 高效液相色谱法; 丙烯酸; 含量测定

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2016)08-0982-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.08.004

Determination of Acrylic Acid in Carbomer Copolymer by HPLC

ZHANG Zhaoyang, YAN Zhongtian, YANG Rui, SUN Huimin* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of acrylic acid in carbomer copolymer. **METHODS** The samples were separated on Sepax GP-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) eluted with potassium dihydrogen phosphate-methanol(8:2) as mobile phase. The isocratic elution was used at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength was 200 nm, the column temperature was 30 °C. **RESULTS** The calibration curve was linear in the range of 0.327 5~32.75 μg·mL⁻¹ for acrylic acid with $r=0.999\ 6$, the average recovery was 93.02%. **CONCLUSION** The method is accurate and reliable, and can be applied for the quality control of acrylic acid in carbomer copolymer.

KEY WORDS: carbomer copolymer; HPLC; acrylic acid; content determination

卡波姆共聚物为合成的高分子丙烯酸聚合物, 其由丙烯酸和具有长链烷基的异丁烯酸与多元醇烷基醚共聚所得^[1-2]。该高分子聚合物最早由美国 Goodrich 公司生产, 常用作生物黏附剂、乳化剂、黏度提升剂和释放阻滞剂等^[3-4]。USP 38/NF33 对卡波姆共聚物中丙烯酸的检测, 前处理方法中加入了氢氧化钠和氯化钙促进凝胶崩解, 达到释放丙烯酸的目的^[5]。但是本实验证实, 加入的氢氧化钠会与回收率试验中添加的丙烯酸反应, 导致丙烯酸峰形产生明显变化, 使供试品中残留丙烯酸无法检出。本实验参考 EP 8.0 卡波姆项下丙烯酸检测前处理方法^[6], 并对 EP 8.0 的 HPLC 洗脱程序进行优化。

1 仪器与试剂

Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), Waters 2998 PDA 检测器, Empower3 色谱工作站。XS205 电子天平(Mettler Toledo)。

卡波姆共聚物(路博润先进化工亚太有限公

司, 批号: 0101083429, 0101091237); 硫酸铝钾(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20130216); 丙烯酸(Aldrich, 批号: STBD2420V, 纯度: 99.5%); 磷酸二氢钾(国药集团化学试剂有限公司, 批号: T20090424); 磷酸(国药集团化学试剂有限公司, 批号: T20101029); 甲醇(Fisher scientific, 批号: 130103); 超纯水(Millipore)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Sepax GP-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 磷酸二氢钾溶液(取磷酸二氢钾 6.80 g, 加水 300 mL 使溶解, 并稀释至 500 mL, 取该溶液 100 mL, 加水稀释至 1 L, 用磷酸调节 pH 至 3.0±0.1)-甲醇(8:2); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 200 nm; 柱温: 30 °C。

在此色谱条件下, 丙烯酸与供试品中其他成分能达到完全分离, 以丙烯酸峰计算, 理论板数为 3 500。以硫酸铝钾水溶液(25 g·L⁻¹)作为空白溶

基金项目: “重大新药创制” 国家科技重大专项(2015ZX09303001)

作者简介: 张朝阳, 女, 博士, 助理研究员 Tel: (010)67095718
研究员 Tel: (010)67052750 E-mail: sunhm@126.com

E-mail: zhaoyang_zhang2012@126.com

*通信作者: 孙会敏, 男,

液。精密量取 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果表明空白溶液对丙烯酸测定($t_R=5.9$ min)无影响。丙烯酸对照品水溶液和丙烯酸经硫酸铝钾提取后溶液的色谱图见图 1。

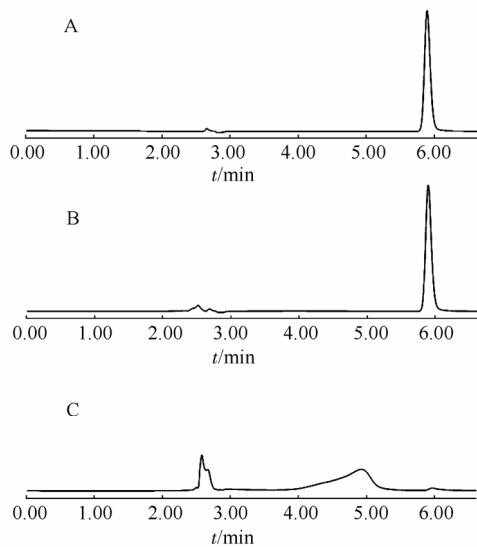


图 1 HPLC 色谱图

A-丙烯酸水溶液; B-丙烯酸经硫酸铝钾提取后的溶液; C-丙烯酸经氢氧化钠提取后的溶液。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-acrylic acid in water; B-acrylic acid was extracted by aluminum potassium sulfate; C-acrylic acid was extracted by sodium hydroxide.

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品储备液 取丙烯酸对照品适量, 精密称定, 用硫酸铝钾水溶液($25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)溶解稀释成 $3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液, 作为对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液 取本品约 50 mg, 精密称定, 置于具塞离心管中, 加硫酸铝钾水溶液($25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 5 mL, 密封, 振摇 1 h(50°C , $250 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$), 离心 10 min($10\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$), 过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系、定量限和检测限 精密量取丙烯酸对照品储备液一定量, 以硫酸铝钾水溶液($25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)分别稀释成 $0.3275\sim 32.75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的丙烯酸系列对照品溶液。按“2.1”项下色谱条件进样分析, 以峰面积(Y)为纵坐标, 丙烯酸浓度(X)为横坐标进行回归计算, 结果回归方程为 $Y=73\,283X-13\,193$, 相关系数 $r=0.9996$ 。结果表明丙烯酸在 $0.3275\sim 32.75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系。

取丙烯酸对照品储备液, 用硫酸铝钾水溶液($25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)逐级稀释, 当信噪比为 10 时, 得到定量限为 $0.33 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n=3$, $\text{RSD}=1.6\%$); 当信噪比为 3 时, 得到检测限为 $0.16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3.2 仪器精密度试验 取对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 连续进样 5 次, 计算峰面积的 RSD 为 1.3%, 表明仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 分别制备丙烯酸对照品溶液和供试品溶液(丙烯酸含量为 $0.041 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$)各 1 份, 制备后在室温放置 0, 12, 24 h, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 记录色谱峰面积。对照品溶液和供试品溶液中丙烯酸在 12, 24 h 测得峰面积的 RSD 分别为 1.6%和 1.98%, 表明含有丙烯酸的卡波姆共聚物供试品溶液室温放置 24 h 内稳定。

2.3.4 加样回收率试验 取同一批已知含量的卡波姆共聚物样品(批号: 0101083429, 丙烯酸含量为 $0.041 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$)各 6 份, 分别精密加入一定量的丙烯酸对照品溶液, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 计算回收率及 RSD。卡波姆共聚物中丙烯酸的平均回收率为 93.02%, RSD 为 8.8%($n=6$)。表明本方法回收率较好, 见表 1。

表 1 加样回收率测定结果($n=6$)

Tab. 1 Results of recovery tests($n=6$)

加入量/ μg	样品本底值/ μg	测量值/ μg	回收率/%	平均回收率/%
65.17	2.14	67.87	100.8	
65.17	2.43	64.66	95.64	
32.59	2.13	33.80	97.36	
32.59	2.15	34.24	98.56	93.02
1.629 3	1.99	2.90	80.15	
1.629 3	2.18	3.26	85.60	

2.3.5 供试品含量的测定 分别称取 2 批卡波姆共聚物适量, 每批 2 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 按外标曲线法计算杂质丙烯酸含量, 丙烯酸含量分别为 0.004 1%(批号: 0101083429), 可检出但低于定量限(批号: 0101091237), 均符合 USP 38/NF33 和 EP 8.0 丙烯酸限度要求($\leq 0.25\%$)。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

EP 8.0 采用梯度洗脱方法分离卡波姆共聚物中的丙烯酸^[6]。在实验中发现, 使用梯度洗脱条件,

丙烯酸和硫酸铝钾的色谱峰易于重叠。而使用等度洗脱,用磷酸二氢钾溶液-甲醇(8:2)作为流动相,丙烯酸可以和供试品中的其他成分达到完全分离,且分析时间合适。因此,本实验最后选择等度洗脱方式进行分离。

3.2 检测波长的选择

有文献使用 210 nm 作为检测波长测定丙烯酸的含量^[7]。本实验测定丙烯酸的紫外吸收光谱,发现其在 200 nm 处有最大吸收,且在 200 nm 波长处测定的灵敏度高于 210 nm,因此选择 200 nm 作为检测波长。

3.3 供试品处理方法选择

USP 38/NF33^[5]对卡波姆共聚物中丙烯酸的检测,前处理方法中使用了氢氧化钠和氯化钙促进凝胶崩解,达到释放丙烯酸的目的。本实验发现,加入的氢氧化钠会与游离丙烯酸反应,导致丙烯酸峰形产生明显变化,使供试品中残留丙烯酸无法检出。本实验参考 EP 8.0 方法^[6],用硫酸铝钾水

溶液(25 g·L⁻¹)提取样品中的丙烯酸,硫酸铝钾可提供多价阳离子,屏蔽卡波姆共聚物中的羧基电荷,从而降低凝胶黏度,利于游离丙烯酸释放。本方法简单,重现性、色谱峰形好,适于卡波姆共聚物中丙烯酸的提取和含量测定。

REFERENCES

- [1] 姚日生. 药用高分子材料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [2] 罗 R C, 舍斯基 P J, 韦勒 P J. 药用辅料手册[M]. 第 4 版. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [3] WANG Y, WANG Z J. Review on the application of carbomer in pharmaceuticals [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2005, 19(6): 361-365.
- [4] 苏杰, 张钧寿, 吴葆金, 等. 卡波姆—新型药物辅料[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(9): 579-581.
- [5] USP 38/NF33 [S]: 6576-6579.
- [6] EP 8.0 [S]: 1766-1768.
- [7] ZHANG L F, CHENG Z P, LU J M. Analysis of residual acrylic acid in super water-absorbing resin by HPLC [J]. Chin J Coll Polymer(胶体与聚合物), 2001, 19(2): 40-41.

收稿日期: 2016-01-05

p38MAPK 对慢性前列腺炎疼痛的影响及槲皮素的干预作用

程丽艳, 屠凌岚, 史红* (浙江省医学科学院药物所, 杭州 310013)

摘要: 目的 探讨槲皮素对前列腺炎疼痛抑制作用的可能机制。方法 利用同源大鼠前列腺蛋白提取液辅以弗氏完全佐剂诱导大鼠自身免疫性前列腺炎模型,槲皮素灌胃给药 10 周后,用 HE 染色法观察各组大鼠前列腺组织形态学差异;ELISA 法测定各组血清中 IL-8、TNF- α 及内皮中性粒细胞激活肽 78(endothelial neutrophil activating protein, ENA-78)的含量变化;免疫组化法测定神经生长因子(nerve growth factor, NGF)在前列腺组织内的表达;Western blotting 法测定前列腺组织内基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38MAPK)及总 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)表达的变化。结果 与模型对照组比较,槲皮素能不同程度减轻各组前列腺炎组织的炎症状况;模型对照组血清 IL-8、TNF- α 及 ENA-78 含量明显增高,槲皮素 200 mg·kg⁻¹能明显降低慢性前列腺炎大鼠血清 IL-8、TNF- α 及 ENA-78 的水平(P<0.05);200, 100, 50 mg·kg⁻¹槲皮素给药均能不同程度抑制 NGF 在前列腺组织的原位表达;槲皮素 200 mg·kg⁻¹组与模型对照组比较, MMP-9、总 p38MAPK 及 p-p38MAPK 表达量不同程度降低。结论 在大鼠慢性前列腺炎模型, p38MAPK 信号转导途径被激活,槲皮素可同步降低细胞因子 IL-8、TNF- α 、ENA-78 的含量及 p38MAPK、p-p38MAPK 的表达,这为槲皮素治疗前列腺炎疼痛提供一条新思路。

关键词: 前列腺炎;疼痛;槲皮素; p38MAPK

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)08-0984-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.08.005

基金项目: 浙江省科技计划项目(2013C33196); 浙江省中医药科技计划项目(2012ZB021)

作者简介: 程丽艳, 女, 硕士, 助理研究员 Tel: (0571)88215621 E-mail: ziding6374@163.com *通信作者: 史红, 女, 研究员 Tel: (0571)88215621 E-mail: shihong_86@aliyun.com