

五层共挤膜输液用膜中4种抗氧化剂的同时测定及迁移研究

严瑞娟^{1,2}, 肖娟¹, 张水寒^{1*}, 蔡萍¹

1. 湖南省中医药研究院 中药新药研究与开发重点实验室, 湖南 长沙 410013

2. 湖南中医药大学 药学院, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 建立同时测定抗氧化剂 1010、330、168、1076 的高效液相色谱法 (HPLC), 测定五层共挤膜输液用膜中的 4 种抗氧化剂, 并研究抗氧化剂向 0.9% 氯化钠注射液中的迁移情况。方法 采用 RP-HPLC 方法, 色谱柱为伊利特 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-四氢呋喃-水 (63:30:7) 为流动相, 柱温 30 ℃, 体积流量 1 mL/min; 检测波长 276 nm, 进样量 10 μL。结果 抗氧化剂 1010、330、168、1076 分别在 0.6~253.6、0.6~246.4、0.6~257.6、0.6~251.6 μg/mL 线性关系良好, 平均回收率分别为 90.70% (RSD=2.35%)、89.11% (RSD=2.75%)、89.87% (RSD=3.01%)、92.78% (RSD=1.81%)。同时测定五层共挤膜输液用膜中的抗氧化剂 1010、330、168、1076, 所建立的 HPLC 法稳定性好、准确度高, 可用于五层共挤膜输液用膜中抗氧化剂的测定。结论 四种抗氧化剂在输液用膜及原材料中的量均符合欧洲药典标准, 迁移试验在 0.9% 氯化钠注射液中均未检出。

关键词: 五层共挤膜输液用膜; 抗氧化剂; HPLC

中图分类号: R954

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2012)05-0354-05

Simultaneous determination and migration of four anti-oxidants in five-layer co-extrusion films used for infusion

YAN Rui-juan^{1,2}, XIAO Juan¹, ZHANG Shui-han¹, CAI Ping¹

1. Key Laboratory of Chinese Materia Medica Research and Development, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, China

2. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatography method for simultaneous determination of anti-oxidants 1010, 330, 168, and 1076 in five-layer co-extrusion films used for infusion, and to study the migration of anti-oxidants to 0.9% sodium chloride injection. **Methods** The study was carried out by using RP-HPLC with Yilite C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) and acetonitrile-tetrahydrofuran-water (63:30:7) as mobile phase. The column temperature was 30 ℃, flow rate was 1 mL/min, detection wavelength was 276 nm, and injection volume was 10 μL. **Results** Under the chromatographic conditions used, anti-oxidants 1010, 330, 168, and 1076 had good linear relationship respectively in the following ranges of 0.6—253.6, 0.6—246.4, 0.6—257.6, and 0.6—251.6 mg/L, and the average recoveries were 90.70% (RSD = 2.35%), 89.11% (RSD = 2.75%), 89.87% (RSD = 3.01%), and 92.78% (RSD = 1.81%). **Conclusion** This validated method is available for quality evaluation and quality control of anti-oxidants 1010, 330, 168, and 1076 in five-layer co-extrusion films used for infusion. The contents of four kinds of anti-oxidants in infusion films and raw materials meet the standards of *European Pharmacopoeia*. The migration contents of anti-oxidants to 0.9% sodium chloride injection are not detected.

Key words: five-layer co-extrusion films used for infusion; anti-oxidant; HPLC

非 PVC 复合膜软袋是当今输液包装材料的最新技术, 它具有弹性好、温度耐受范围广、与药物相容性好、适宜包装各种药液、利于药液的长期储存等优点, 是今后静脉药物治疗用包材的发展趋势,

成为医药化工行业关注和研究的热点^[1-3]。五层共挤膜输液用膜袋属于非 PVC 复合膜软袋, 其五层共挤膜输液用膜是指将酯类共聚物/乙烯甲基丙烯酸酯聚合物/聚乙烯/聚乙烯/改性乙烯-丙烯聚合物五层

收稿日期: 2012-06-14

作者简介: 严瑞娟 (1987—), 女, 河南周口人, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂。Tel: 13787103294 E-mail: yanruijuan52162@126.com

*通讯作者 张水寒, 女, 研究员, 研究方向为中药制剂及分析。E-mail: 631814420@qq.com

采用共挤出工艺、不使用黏合剂所形成的五层输液用膜,所用的材料以高分子有机物质为主要成分。为延长高分子材料的寿命,抑制或延缓聚合物的氧化降解,较有效且常用的措施是添加亚磷酸酯类、酚类、硫酯类等抗氧化剂,但抗氧化剂的结构复杂且性质不稳定,有可能与药物分子发生相互作用而影响药效的发挥或从包装材料中迁移到药液中进入人体而危害人体健康甚至危及生命,因此有必要对输液用膜及原材料中的抗氧化剂进行测定及迁移研究,以保障人类输液的安全^[4-6]。但国内非PVC复合膜软袋的发展尚处于起步阶段,有关材料中有害物质对临床应用影响的研究甚少,为此本文以湖南新五洲医药包装有限责任公司提供的3批五层共挤膜输液用膜及原材料为研究对象,考察了抗氧化剂在输液用膜及原材料中的量及在0.9%氯化钠注射液中的溶出情况。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-10ATVP 高效液相色谱仪(日本岛津),SPD-10Avp 检测器(日本岛津);AE240 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);PEP-SPE 60 mg/3 mL Agela Cleanert 型固相萃取柱(安吉尔)。

1.2 试剂试药

四[亚甲基-(3,5-二叔丁基-4-羟基氢化肉桂酸酯)]甲烷(抗氧化剂1010,CAS号6683-19-8)、1,3,5-三甲基-2,4,6-三(3,5-二叔丁基-4-羟基苄基)苯(抗氧化剂330,CAS号1709-70-2)、三(2,4-二叔丁基苯基)亚磷酸酯(抗氧化剂168,CAS号31570-04-4)、十八烷基3,5-二叔丁基-4-羟基氢化肉桂酸酯(抗氧化剂1076,CAS号2082-79-3)均购于北京世纪奥科生物技术有限公司;五层共挤膜输液用膜3批(批号20101102、20101103、20101104)及其原材料改性聚丙烯(Cawiton PR 5969)、改性乙烯-丙烯聚合物(Cawiton PR 9897.2)、改性乙烯-丙烯聚合物(Cawiton PR 9897)、乙烯甲基丙烯酸酯聚合物(Cawiton PR 8660)、酯类共聚物(Cawiton PR 9524)均由湖南新五洲医药包装有限责任公司提供;0.9%氯化钠注射液(广西南宁百会药业集团有限公司,批号B20101105-1);其余试剂为分析纯或色谱纯。

2 方法

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液的制备 取抗氧化剂1010、330、168、1076对照品各0.18 g,精密称定,用四氢呋

喃-乙腈(1:1)定容至50 mL,作为混合对照品储备液(约为3.6 mg/mL)。取对照品储备液,用四氢呋喃-乙腈(1:1)稀释至240 µg/mL即得。

2.1.2 五层共挤膜输液用膜及原材料中抗氧化剂定量测定用供试液的制备 取样品2.0 g,精密称定,置于圆底烧瓶中,加80 mL甲苯煮沸回流1.5 h,冷却至60 °C,边搅拌边加入120 mL甲醇,用4号砂芯漏斗过滤。用25 mL甲苯-甲醇(40:60)冲洗烧瓶和漏斗,将洗液并入滤液中,用同样溶液稀释到250 mL。取50 mL挥干,用适量四氢呋喃-乙腈(1:1)溶解残留物,定容至5.0 mL,0.45 µm滤膜滤过,待用。

2.1.3 五层共挤膜输液用膜抗氧化剂迁移量检测用供试液的制备 取30.0 g样品,剪成5 cm×0.5 mm的长条,精密称定,置烧杯中,加水300 mL洗涤,室温干燥后,移至锥形瓶中,加入0.9%氯化钠注射液150 mL,置于高压蒸汽灭菌器中,121 °C保持30 min,冷却至室温,移出,即得样品液。

用4 mL甲醇和4 mL水依次活化固相萃取柱,量取100 mL上述样品液,以2~3 mL/min体积流量通过固相萃取柱,分别用5 mL甲醇、3 mL四氢呋喃依次洗脱(洗脱过程不加压),收集洗脱液,用四氢呋喃-乙腈(1:1)定容至10 mL,0.45 µm滤膜滤过,待用。

2.2 检测波长选择

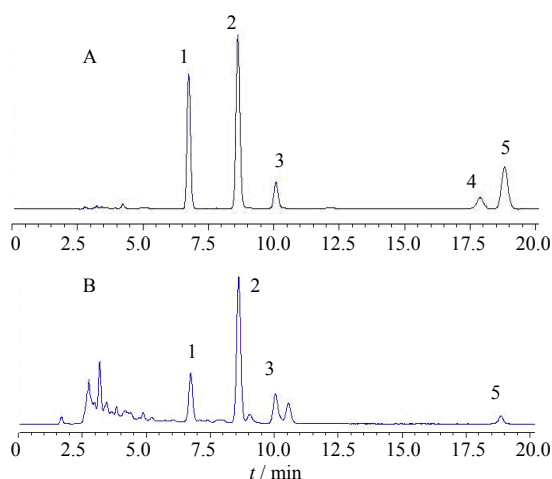
取抗氧化剂1010、330、168、1076对照品适量,分别加流动相制成质量浓度约50 µg/mL的待测溶液,置紫外分光光度计中进行全波长扫描,结果显示上述4种抗氧化剂溶液均在220、276 nm左右有最大吸收,220 nm处的吸收峰受溶剂干扰较大,而276 nm波长处杂质吸收小,测定中干扰小,因此选择276 nm作为试验波长。

2.3 色谱条件

流动相的选择参照有关文献^[6-9],对多种系统进行筛选,最终确定如下条件。色谱柱为大连伊利特C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 µm);流动相为乙腈-四氢呋喃-水(63:30:7);检测波长276 nm;柱温30 °C;体积流量1.0 mL/min;进样量10 µL;理论板数≥2 000。

2.4 系统适应性试验

取混合对照品溶液,按“2.3”项下条件进样,记录色谱图,如图1-A。抗氧化剂168易被氧化,产生磷酸盐和亚磷酸盐两种物质。经试验确证磷酸



1~5- 抗氧化剂 1010、330、168-1、168-2、1076

1~5- anti-oxidants 1010, 330, 168-1, 168-2, and 1076

图1 抗氧化剂对照品(A)和五层共挤膜输液用膜样品(B) HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatographs of standards (A) and sample of five-layer co-extrusion films used for infusion (B)

盐和亚磷酸盐峰面积之和具有统计意义,因此本次试验均采用两者峰面积之和进行计算。结果表明在上述条件下,抗氧化剂与其他成分能达到基线分离,且供试品中抗氧化剂保留时间与对照品一致,空白无干扰。

2.5 空白试验

按“2.1.2”项下方法,不加样品制成阴性对照液,取此溶液,按“2.3”项下条件进行测定,结果在抗氧化剂位置无明显吸收峰,证明杂质对抗氧化

剂测定无干扰。

按“2.1.3”项下方法,不加样品制成阴性对照液,取此溶液,按“2.3”项下条件进行测定,结果在抗氧化剂位置无明显吸收峰,证明杂质对抗氧化剂测定无干扰。

3 结果

3.1 线性考察

取混合对照品溶液用四氢呋喃-乙腈(1:1)逐步稀释至质量浓度为240、120、48、24、12、6、1.2、0.6 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品稀释液S1~S8,分别按“2.3”项下条件注入色谱仪,记录峰面积,以峰面积(X)对质量浓度(Y)进行线性回归。各抗氧化剂在相应浓度范围内线性关系良好,结果见表1。

3.2 最低检测限

取抗氧化剂混合对照品溶液,用四氢呋喃-乙腈(1:1)逐步稀释,据液相色谱仪离线分析软件计算,结果见表2。

3.3 最低定量限

取抗氧化剂混合对照品溶液,用四氢呋喃-乙腈(1:1)逐步稀释,据液相色谱仪离线分析软件计算,结果见表3。

3.4 精密度试验

取抗氧化剂混合对照品溶液,按“2.3”项下色谱条件测定,连续进样6次,记录峰面积,计算RSD,结果见表4。结果表明,本方法精密度良好。

表1 四种抗氧化剂的线性关系及回归方程($n=3$)

Table 1 Linear ranges and linear regression equations of four anti-oxidants ($n=3$)

抗氧化剂	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	回归方程	r
抗氧化剂 1010	0.6~253.6	$Y=0.000\ 3X+0.166\ 0$	0.999 9
抗氧化剂 330	0.6~246.4	$Y=0.000\ 2X-0.214\ 1$	0.999 9
抗氧化剂 168	0.6~257.6	$Y=0.001\ 1X-0.974\ 7$	0.999 3
抗氧化剂 1076	0.6~251.6	$Y=0.000\ 6X-0.092\ 9$	0.999 9

表2 最低检测限试验结果($n=3$)

Table 2 Results of lowest detection limit of four anti-oxidants ($n=3$)

抗氧化剂	平均信噪比	最低检测量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
抗氧化剂 1010	3	0.047
抗氧化剂 330	3	0.083
抗氧化剂 1076	3	0.007
抗氧化剂 168	3	0.157

表3 最低定量限试验结果($n=3$)

Table 3 Results of lowest quantification limit of four anti-oxidants ($n=3$)

抗氧化剂	平均信噪比	最低定量限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
抗氧化剂 1010	10	0.144
抗氧化剂 330	10	0.251
抗氧化剂 168	10	0.477
抗氧化剂 1076	10	0.023

表4 精密度的试验结果 ($n=3$)Table 4 Precision results of four anti-oxidants ($n=3$)

抗氧化剂	质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD / %
抗氧化剂 1010	253.6	3.8
抗氧化剂 330	246.4	2.8
抗氧化剂 168	257.6	1.2
抗氧化剂 1076	251.6	3.8

3.5 重复性试验

取同一批样品 6 份, 每份 2.0 g, 精密称定, 按 (2.1.2) 项下制备方法制备样品溶液, 按“2.3”项下色谱条件测定, 记录峰面积, 计算 RSD。抗氧化剂 1010、330、168、1076 的 RSD 分别为 2.8%、3.7%、2.0%、2.4%, 表明本法重复性良好。

3.6 稳定性试验

取抗氧化剂混合对照品溶液, 室温放置, 分别于 0、1、2、4、6、12、24 h 按“2.3”项下色谱条件测定, 记录峰面积, 计算 RSD, 4 种抗氧化剂的 RSD 分别为 4.6%、2.9%、1.1% 和 4.5%, 表明这 4 种物质该条件下至少 24 h 内稳定, 其中抗氧化剂 168 结构易被氧化, 但磷酸盐和亚磷酸盐在检测波长下紫外吸收接近, 两者峰面积之和稳定。

3.7 回收率试验

分别取抗氧化剂混合对照品溶液 2.5、5.0、10 mL 加入样品 (批号 20101102) 中。按“2.1.2”项下方法制备加标样品液, 自“加 80 mL 甲苯煮沸回流 1.5 h”起, 依法操作, 用 0.45 μm 滤膜滤过后, 按“2.3”项下条件测定, 记录峰面积, 计算回收率, 结果见表 5。

表5 回收率试验结果 ($n=3$)Table 5 Recovery test results of four anti-oxidants ($n=3$)

抗氧化剂	平均回收率/%	RSD/%
抗氧化剂 1010	90.7	2.35
抗氧化剂 330	89.1	2.75
抗氧化剂 168	89.9	3.00
抗氧化剂 1076	92.8	1.81

3.8 五层共挤膜输液用膜及原材料中抗氧化剂测定结果

按“2.1.1”及“2.1.2”项下方法制备对照品及供试品溶液, 分别取对照品溶液与供试品溶液 10 μL , 按“2.3”项下色谱条件对各样品进行定量分析, 每个批次平行测定 3 次, 测定峰面积, 外标法计算 4 种抗氧化剂的量, 结果见表 6, 色谱图如图 1-B。结果表明, 五层共挤膜输液用膜及原材料中抗氧化剂测定结果均符合《欧洲药典》要求。

表6 五层共挤膜输液用膜及原材料中抗氧化剂的测定结果 ($n=3$)Table 6 Contents of anti-oxidants in five-layer co-extrusion films used for infusion samples and raw materials ($n=3$)

原 料	所含抗氧化剂/%			
	抗氧化剂 1010	抗氧化剂 330	抗氧化剂 168	抗氧化剂 1076
改性聚丙烯 (5969)	0.026 9	—	0.082 9	—
改性乙烯-丙烯聚合物 (9897.2)	0.000 6	0.003 1	0.005 6	—
酯类共聚物 (9524)	0.014 2	—	0.044 0	0.075 2
乙烯甲基丙烯酸酯聚合物 (8660)	0.000 6	0.004 1	0.005 0	0.000 6
改性乙烯-丙烯聚合物 (9897)	0.018 3	0.000 1	0.073 4	—
五层共挤膜输液用膜 20101102	0.012 2	0.029 2	0.030 6	0.001 1
20101103	0.011 2	0.026 2	0.031 3	0.001 0
20101104	0.010 7	0.023 4	0.037 4	0.000 9

3.9 抗氧化剂迁移率试验结果

按照“2.1.1”及“2.1.3”项下方法制备对照品及供试品溶液, 分别取对照品溶液与供试品溶液 10 μL , 按“2.3”项下色谱条件对样品进行定量分析, 每个批次平行测定 3 次, 根据色谱图对迁移率进行检测, 均未检出。结果表明 3 批样品中抗氧化剂 1010、330、168、1076 均未向 0.9%氯化钠注射液

中迁移。

4 结论

本研究建立了同时测定抗氧化剂 1010、330、168、1076 的 HPLC 方法, 该法准确度高、线性关系及回收率较好。使用该方法同时测定了由湖南新五洲医药包装有限责任公司提供的输液用膜及原材料中的 4 种抗氧化剂, 结果表明所有材料均符合《欧

洲药典》第5版(非肠道制剂及眼科制剂用容器用聚丙烯)规定的单个抗氧化剂及抗氧化剂总量均不得超过0.3%的限度要求。迁移率试验研究发现,抗氧化剂在0.9%氯化钠注射液中的迁移量未检出,即低于此方法的检测限,临床应用安全。

该研究为五层共挤膜输液用膜的质量控制提供了新的研究方法,为该材料在医药领域的应用提供了理论依据。研究虽未检出抗氧化剂在0.9%氯化钠注射液中的迁移量,但抗氧化剂迁移量是否会随着输液用材料中抗氧化剂量的增大而增大、控制药用输液包装生产过程中加入抗氧化剂的比例和必要性,以及存储以有机溶剂为介质的药物是否安全等问题还有待进一步考察。

参考文献

[1] 宋 军, 隋志军, 汪 丽. 从 PP 消费结构看聚丙烯应用的发展点 [J]. 国外油田工程, 2002, 18(2): 39-41.

- [2] 董建红, 田建宣. 一种新型输液包材多层共挤膜输液袋安全性评价 [J]. 河北医药, 2007, 29(11): 1280-1281.
- [3] 关肇基, 姜 斌. 改性聚丙烯应用开发概况 [J]. 合成树脂及塑料, 1990, 1: 14-20.
- [4] 曹承敬, 张书珍, 张 铄. 四种受阻酚类抗氧剂的毒理研究 [J]. 北京医学院学报, 1982, 14(2): 105-109.
- [5] 李玉松. 高分子材料防护助剂的毒性 [J]. 合成材料老化与应用, 1992, 2: 39-48.
- [6] Dopico-García M S, López-Vilariño J M, González-Rodríguez M V. Determination of antioxidant migration levels from low-density polyethylene films into food simulants [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1018(1): 53-62.
- [7] 张 博, 王晓莹, 梁翰倡. 用反相液相色谱法测定 HOPE 中抗氧化剂含量 [J]. 齐鲁石油化工, 1990, 18(4): 34-37.
- [8] 李丹妮, 刘雯雯, 练鸿振. 抗氧化剂 168 的质量控制分析及杂质鉴定 [J]. 应用化学, 2005, 22(5): 511-516.
- [9] 王桂琴. 液相色谱法测定 SIS 抗氧化剂 1010 含量 [J]. 弹性体, 1998, 8(2): 28-31.