

聚山梨酯 80 质量评价及检测方法的研究概况

聂黎行¹, 何雨晴², 戴忠¹, 于健东^{1*}, 马双成^{1*}

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

2. 济宁医学院, 山东 日照 276800

摘要: 归纳聚山梨酯 80 在质量标准、组分分析、杂质检查方面的研究概况, 总结制剂中聚山梨酯 80 的含量测定方法, 探讨了现有技术的特点。聚山梨酯 80 的成分可以通过分光光度法、分子排阻-蒸发光散射检测法 (SEC-ELSD)、液质联用法 (LC-MS) 直接测定, 也可以水解后法经液相色谱-紫外检测法 (HPLC-UV) 或气相色谱法 (GC) 间接测定。近年来有关聚山梨酯 80 的组分分析和杂质检查的研究已经取得了长足的进步。但由于聚山梨酯 80 原料纯度差异较大, 相关制剂中该辅料的含量测定方法还有待深入研究。

关键词: 聚山梨酯 80; 质量标准; 组分分析; 杂质检查; 含量测定

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 07 - 1005- 08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.07.026

Research progress on quality evaluation and assay methods of polysorbate 80

NIE Li-xing¹, HE Yu-qing², DAI Zhong¹, YU Jian-dong¹, MA Shuang-cheng¹

1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

2. Jining Mmedical University, Rizhao 276800, China

Abstract: Research progress of polysorbate 80 was summarized, including standards, chemical composition and impurity test. Assay methods of polysorbate 80 in preparations were also summarized. In addition, characteristics of the current technologies were discussed. Compositions of polysorbate 80 could be detected directly by spectrophotometry, SEC-ELSD or LC-MS methods. In addition, they could be analyzed indirectly by determining the hydrolysates with HPLC-UV or GC methods. In recent years, remarkable progress has been achieved in chemical composition determination and impurity test of polysorbate 80. But assay method of the excipient in related drugs need further study, due to large difference between purities of polysorbate 80 raw materials.

Key words: polysorbate 80; quality standard; chemical composition determination; impurity test; assay

聚山梨酯 80 (polysorbate 80) 又名吐温 80 (tween-80), 化学名为聚氧乙烯 20 山梨醇酐单油酸酯 (polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate), 属于亲水型非离子表面活性剂, 是药物制剂中常用辅料之一。聚山梨酯 80 分子中失水山梨醇环和较长的碳链结构具有亲油性, 而聚氧乙烯基具有亲水性, 醚键氧原子也能与水中氢原子生成氢键^[1], 从而使其对亲脂性成分起到助溶作用^[2-4], 作为增溶剂、乳化剂、稳定剂或润滑剂用于药品和生物制品的制剂过程^[5-9]。其在中药注射剂中的应用尤为广泛, 常见

的产品包括鱼腥草注射液、香丹注射液、柴胡注射液等。为了提高注射剂澄明度和稳定性, 多个品种选择聚山梨酯 80 作为辅料, 加入量在 0.1%~2%^[10]。

有研究认为聚山梨酯 80 的加入可能引起注射剂不良反应增加^[11-12], 主要与辅料本身的特性和其所含杂质有关。也有文献报道聚山梨酯 80 和加入聚山梨酯 80 的注射剂可引起家兔红细胞体外溶血和红细胞形态改变^[13-16], 还可诱发小鼠、大鼠、豚鼠或 Beagle 犬出现类过敏和过敏反应^[17-22]。进一步研究表明, 聚山梨酯 80 的相对分子质量分布和杂

收稿日期: 2017-04-26

基金项目: 国家自然科学基金 (81303194); 国家中医药管理局“中药标准化建设”项目 (ZYBZH-C-JS-32)

作者简介: 聂黎行 (1982—), 副研究员, 研究方向为中药质量控制、中药化学对照品研制和光谱技术在药品质量控制中的应用。

Tel: (010)67095282 E-mail: nielixing@163.com

*通信作者 于健东, 男, 主任药师, 研究方向为中药分析。Tel: (010) 67095307 E-mail: yujiandong@nifdc.org.cn

马双成, 男, 研究员。Tel: (010) 67095272 E-mail: masc@nifdc.org.cn

质双氧水的含量与其过敏反应呈负相关^[23-24]。郭志鑫等对多个中药注射剂中聚山梨酯 80 的加入量进行了考察,发现存在超量使用甚至违规使用现象^[25]。因此,制剂中有必要对聚山梨酯 80 的质量和投料加以严格控制。近年以来辅料对药品安全性的影响日益受到重视,有关聚山梨酯 80 的研究与监管获得了长足进展,但全面、系统的论述尚未见报道。本文对聚山梨酯 80 的质量评价方法及制剂中聚山梨酯 80 的含量测定等研究进展进行归纳总结,以期对相关药品的质量控制和安全用药提供参考。

1 聚山梨酯 80 的质量标准

聚山梨酯 80 现行标准收载于《中国药典》二部^[26],定义为油酸山梨坦和环氧乙烷聚合而成的聚氧乙烯 20 油酸山梨坦。美国药典、欧洲药典、英国药典、日本药局方也均有收录。自 2015 年版起,《中国药典》将注射用聚山梨酯 80 的质量标准单列,明确其为植物来源的油酸山梨坦和环氧乙烷聚合而成的聚氧乙烯 20 油酸山梨坦。与普通药用级别相比,注射用聚山梨酯 80 的药典标准除对微生物限度有规定外,还额外要求检查吸光度和三甘醇。其余检查项,如酸值、过氧化值、颜色、水分、炽灼残渣、脂肪酸组成等的限度设定也更加严格,见表 1。《中国药典》附录中收载有聚山梨酯 80 残留量测定法^[26],主要用于重组人干扰素 $\alpha 2a$ 注射液、注射用鼠神经生长因子等生物制品中聚山梨酯 80 的测定。中药注射剂标准中尚未收录与聚山梨酯 80 相关的检测项目。

2 聚山梨酯 80 的组分分析

聚山梨酯 80 由油酸、失水山梨醇、环氧乙烷经酯化、聚合生成,《中国药典》定义其系油酸山梨坦与环氧乙烷聚合合成的聚氧乙烯 20 油酸山梨坦。但实际上 1 mol 油酸山梨坦与 20 mol 聚氧乙烯的合成只是总投料比,具体到每个分子上聚合的聚氧乙烯数目并不相同,所以聚山梨酯 80 是一个聚氧乙烯聚合数目不同的混合物。由于原料来源、生产工艺的不同,使得不同厂家产品的化学组分及比例可能存在较大差异^[25]。分析聚山梨酯 80 的化学组分,可为其质量标准建立和功能性、安全性研究奠定基础。

丛英等^[27]将聚山梨酯 80 中的亲油基在碱催化条件下甲酯化转化为相应脂肪酸甲酯后,采用气相色谱(GC)测定其中 7 种脂肪酸酯,衍生物经 DB-1 毛细管柱分离,测得 5 批样品中主要含油酸,其次

为亚油酸和硬脂酸。任睿等^[28]采用类似方法,选用 HP-INNOWAX 毛细管柱考察了两个厂家的注射用聚山梨酯 80 中 8 种脂肪酸酯含量,结果 1 个厂家的产品中未检出除油酸外的其他脂肪酸,而另一厂家样品中脂肪酸组成较为复杂。说明即使是注射用聚山梨酯 80,纯度也存在明显差别。

有别于 GC 法的间接测定,高效液相色谱(HPLC)法可直接对聚山梨酯 80 成分进行分离鉴定。张锐等^[29]基于 HPLC 建立了分离聚山梨酯 80 组分的实验条件。以 Eclipse XDB C₁₈ 为固定相,乙腈-水-四氢呋喃梯度洗脱,蒸发光散射检测器(ELSD)检测,发现不同来源的样品中其化学组成差异很大,高纯级样品色谱峰组成相对一致,主要呈现 7 组色谱峰。进一步采用液质联用(HPLC-MS)法鉴定各个色谱峰的化学组分归属,改用乙腈-水(含 0.1% 甲酸铵)洗脱,电喷雾质谱(ESI)正离子扫描,确定了聚山梨酯 80 主要由聚氧乙烯山梨醇酐(polyoxyethylene sorbitan, PS)、聚氧乙烯山梨醇酐-油酸酯(polyoxyethylene sorbitan monooleate, PSM)、聚氧乙烯山梨醇酐二油酸酯(polyoxyethylene sorbitan dioleate, PSD)、聚氧乙烯山梨醇酐三油酸酯(polyoxyethylene sorbitan trioleate, PSTri)、聚氧乙烯山梨醇酐四油酸酯(polyoxyethylene sorbitan tetraoleate, PSTetra)、聚氧乙烯异山梨醇酐(polyoxyethylene isosorbide, PI)、聚氧乙烯异山梨醇酐-油酸酯(polyoxyethylene isosorbide monooleate, PIM)和乙炔异山梨醇酐二油酸酯(polyoxyethylene isosorbide dioleate, PID)组成。有人采用核磁共振氢谱(¹H NMR、HPLC)、液质联用(LC-MS)和二级质谱(MS/MS)技术解析聚山梨酯 80 成分,主要为聚氧乙烯山梨醇酐、聚氧乙烯异山梨醇酐和聚氧乙烯的单酯和双酯^[24]。

张锐等^[31]针对聚山梨酯 80 含有的单一化学组分对照品获取困难的现状,提出由于聚山梨酯 80 的化学组成直接与其起始的原料组成(即山梨醇、一失水山梨醇、异山梨醇、油酸、环氧乙烷)有关,合成设定的环氧乙烷聚合度聚醚相对容易,因此通过测定油酸及不同脱水程度的山梨醇聚醚的含量也可以全面地控制聚山梨酯 80 的化学组成。作者制备了山梨醇聚醚、一失水山梨醇聚醚、异山梨醇聚醚和油酸作为对照品,样品加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 60℃ 水解 4 h, Waters Xbridge™ Amide 柱分离,甲醇-水-乙腈(含 0.1% 甲酸)梯度洗脱, ELSD

表 1 聚山梨酯 80 和聚山梨酯 80 (供注射用) 质量标准对比
Table 1 Comparison on quality standards of polysorbate 80 and polysorbate 80 for injection

检测项目	聚山梨酯 80	聚山梨酯 80 (供注射用)
性状		
外观	本品为无色至微黄色黏稠液体, 微有特臭, 味微苦略涩, 有温特感。	本品为无色至微黄色黏稠液体, 微有特臭, 味微苦略涩, 有温特感。
相对密度	1.06~1.09	1.06~1.09
黏度	350~450 mm ² /s	350~450 mm ² /s
酸值	不得过 2.0	不得过 1.0
皂化值	45~55	45~55
羟值	65~80	65~80
碘值	18~24	18~24
过氧化值	不得过 10	不得过 3
鉴别		
皂化实验	取本品的水溶液 (1→20) 5 mL, 加氢氧化钠试液 5 mL, 煮沸数分钟, 放冷, 用稀盐酸酸化, 显乳白色浑浊	取本品的水溶液 (1→20) 5 mL, 加氢氧化钠试液 5 mL, 煮沸数分钟, 放冷, 用稀盐酸酸化, 显乳白色浑浊
溴化实验	取本品的水溶液 (1→20), 滴加溴试液即褪色	取本品的水溶液 (1→20), 滴加溴试液即褪色
凝胶试验	取本品 6 mL, 加水 4 mL 混匀, 呈胶状物。	取本品 6 mL, 加水 4 mL 混匀, 呈胶状物。
显色试验	取本品的水溶液 (1→20) 10 mL, 加硫氰酸钴铵溶液 5 mL, 振摇混合, 静置后, 三氯甲烷显蓝色。	取本品的水溶液 (1→20) 10 mL, 加硫氰酸钴铵溶液 5 mL, 振摇混合, 静置后, 三氯甲烷显蓝色。
检查		
酸碱度	5.0~7.5	5.0~7.5
吸光度	/	在 225 nm 波长处吸光度不得过 1.0; 在 267 nm 处吸光度不得过 0.10, 且不得出现最大峰
颜色	与黄色二号标准液比较, 不得更深	与黄色二号标准液比较, 不得更深
乙二醇	不得过 0.01%	不得过 0.01%
二甘醇	不得过 0.01%	不得过 0.01%
三甘醇	无要求	不得过 0.01%
环氧乙烷	不得过 0.0001%	不得过 0.000 1%
二氧六环	不得过 0.001%	不得过 0.001%
冻结试验	5 °C ± 2 °C 放置 24 h, 不得冻结	冰浴中放置 24 h, 不得冻结
水分	不得过 3.0%	不得过 0.5%
炽灼残渣	不得过 0.2%	不得过 0.1%
重金属	不得过百万分之十	不得过百万分之十
砷盐	不得过百万分之二	不得过百万分之二
油酸	不得低于 58.0%	不得低于 98.0%
肉豆蔻酸	不得过 5.0%	不得过 0.5%
棕榈酸	不得过 16%	不得过 0.5%
棕榈油酸	不得过 8.0%	不得过 0.5%
硬脂酸	不得过 6.0%	不得过 0.5%
亚油酸	不得过 18.0%	不得过 0.5%
亚麻酸	不得过 4.0%	不得过 0.5%
细菌内毒素	/	<0.012 EU/mg
无菌	/	应符合规定

检测器检测。结果 14 个厂家的 27 批聚山梨酯 80 中油酸、异山梨醇聚醚、一失水山梨醇聚醚、山梨醇聚醚加和值在 82.40%~106.97%。

3 聚山梨酯 80 的杂质检查

乙二醇、氯乙醇、二甘醇均为聚山梨酯 80 合成原料环氧乙烷的毒性降解产物^[32]，很可能残留于最终产品中，故应加以控制。栾琳等^[32]采用 AT-WAX 气相色谱柱建立了聚山梨酯 80 中氯乙醇、乙二醇、二甘醇的检查方法，6 批样品中氯乙醇含量均低于定量限，乙二醇的量在 34~42 mg/kg 二甘醇的量在 13~72 mg/kg。沈娟等^[33]经比较后发现，HP-1、HP-5 毛细管柱不能将乙二醇与二甘醇完全分离，最终采用 HP-INNOWAX 毛细管柱测定聚山梨酯 80 中 2 种成分的量。结果 1 个厂家 2 批样品中上述成分低于检出限，另 2 个厂家的 4 批样品乙二醇和二甘醇含量分别在 0.01%~0.02%。万晓君等^[34]采用气相色谱双柱法（非极性色谱柱 HP-1 和极性色谱柱 HP-INNOWAX）筛选、测定聚山梨酯 80 和脉络宁注射液中氯乙醇、乙二醇、二甘醇的含量，并比较聚山梨酯 80 加热前后这 3 种成分在含量上的变化情况。结果辅料中未检出氯乙醇，检出了乙二醇和二甘醇，两者含量之和在 0.022%~0.045%，105 °C 加热 40 min 后，3 种成分含量未见明显增加；脉络宁注射液中未检出上述有害物质。

油酸是聚山梨酯 80 的重要原料，其来源分为动物来源和植物来源，后者纯度高于前者。使用纯度低的油酸投料成本较低，但会造成最终成品颜色偏深。部分企业在生产工艺的最后一步加入过氧化氢漂白脱色，使产品颜色符合中国药典要求。聚山梨酯 80 中残留的过氧化氢严重威胁到其作为药用辅料的安全性。杨锐等^[35]利用过氧化氢酶与过氧化氢快速、特异性的酶促反应，用过氧化氢酶分解样品中的过氧化氢，结合《中国药典》中测定过氧化值的间接碘量法，测定分解前后样品中强氧化物的含量，建立了快速、准确的聚山梨酯 80 中过氧化氢的测定方法。7 个厂家 18 批样品中均检出过氧化氢，最高达 185.3 mg/kg。

4 制剂中聚山梨酯 80 的含量测定

聚山梨酯 80 并非单一化学成分，且不同来源样品主成分和杂质差异较大，现实情况对该辅料的质量控制提出了挑战。制剂尤其是中药注射剂中聚山梨酯 80 的含量测定是当下关注的热点和难点，按测定方式可分为直接测定法和间接测定法两种。

直接测定法包括分光光度法和 SEC-ELSD 法。经典的分光光度法易于实现，但显色操作准确性和重复性较差，样品中其他金属离子的干扰可能引起显色偏差。中药注射剂基质复杂，某些成分自身或者与硫氰酸钴铵反应后在测定波长处可能也有吸收，造成本底偏高。虽然可以通过扣除不含聚山梨酯 80 的阴性样品的本底吸收以消除系统误差，但如果制订质量标准，很难同时提供统一的阴性样品用于检验。SEC-ELSD 法前处理简单，但聚山梨酯 80 的色谱行为复杂，并非单一的色谱峰，给准确定量带来困难。更为重要的一点，由于不同来源的聚山梨酯 80 内在的化学组分的组成存在很大差异，其在 ELSD 上响应情况也不尽相同，理论上采用 SEC-ELSD 法的一个基本前提在于其所使用的聚山梨酯 80 对照品与样品中所使用的聚山梨酯 80 原料的化学组成必须完全一致，否则所采用的对照品不能起到对照作用。在建立质量标准时，由于不同企业使用不同的聚山梨酯 80 原料来投料，因此难以找到一个统一的对照品用于定量。

间接测定法包括 HPLC-UV 法和 GC 法。前者基于反相色谱和紫外末端吸收测定聚山梨酯 80 的水解产物油酸，前处理相对简单，操作准确度和精密度较高；但灵敏度偏低，且因油酸稳定性较差而受到限制。对于含蛋白较多的制剂，水解过程也会使蛋白水解，产物在紫外有响应，可能会影响检测。GC 法将聚山梨酯 80 水解成油酸后，立即甲酯化，得到更加稳定的油酸甲酯用于测定。该法解决了油酸不稳定的问题，同时可排除其他成分水解产物对紫外检测的干扰，且灵敏度更高，但前处理步骤的增加对准确度和精密度带来了不利影响。另一方面，上述两种方法都是通过油酸或者油酸甲酯与聚山梨酯 80 的相对分子质量之比折算出样品中聚山梨酯 80 的含量，但实际上由于聚山梨酯 80 为一系列聚合度并不确定的环氧乙烷的聚合物，分子量只是一个理论值，所以尽管间接测定法可回避聚山梨酯 80 对照品的问题，但同样也难以测得其准确含量。

4.1 可见分光光度法（比色法）

聚山梨酯 80 的紫外光谱仅有末端吸收，但其化学结构中的聚乙氧基可以和硫氰酸钴铵反应形成蓝色复合物，将该复合物溶于二氯甲烷，可用比色法在 620 nm 左右测定含量。刘燕梅等^[36]采用该方法测定鱼腥草注射液中聚山梨酯 80 含量。经方法学考察，提出《中国药典》附录下的聚山梨酯 80

残留量测定法对照品取样量与二氯甲烷加入量大小,且显色条件不稳定,导致结果重现性较差。经优化后,加大了对照品和供试品取样量,并同比例增加显色剂及二氯甲烷用量至 15 mL 和 10 mL,显色条件改为室温振荡 1 h, 623 nm 下测定吸光度,结果对照品线性关系理想,样品测定重复性、稳定性良好。4 个厂家样品的平均含量分别为 3.24、2.24、5.66、2.44 g/L。吴春丽等^[37]经考察后提出,硫氰酸钴铵溶液的加入量为 8 mL,振荡 40 min 即显色完全,在该条件下测得 10 批鱼腥草注射液中聚山梨酯 80 含量在 0.48%~0.51%,与处方中标示含量 0.5% 相吻合。

4.2 高效液相色谱法

聚山梨酯 80 为极性化合物,在常规的 C₁₈ 柱上几乎无保留,Adamoc 等^[38]基于 1 分子聚山梨酯 80 水解产生 1 分子油酸的原理,采用反相色谱法测定单克隆抗体中聚山梨酯 80 含量。样品于 60 °C 加氢氧化钠水解 18 h,水解液经乙腈萃取后加于 Waters Symmetry C₁₈ 柱分离,乙腈-20 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液(磷酸调 pH 至 2.8)(80:20)洗脱,195 nm 检测。方法检出限为 4 mg/Kg。李建伟等^[39]采用碱水解-HPLC-UV 法测定复方苦参注射液中聚山梨酯 80 的量。样品与 1 mol/L 氢氧化钾溶液混合,在 70 °C 水解 3 h,水解出油酸后经 Eclipse XDB-C₁₈ 柱分离,乙腈-磷酸二氢钾缓冲液(用 85% 磷酸调 pH 至 2.8)(80:20)洗脱,200 nm 检测。作者认为该法与比色法相比,降低了注射液中基质的干扰,提高了方法的专属性;与 GC 法相比,前处理简单、耗时短,但灵敏度稍逊,HPLC 法和 GC 法测得 3 批样品中聚山梨酯 80 的含量差异不大。

然而,由于聚山梨酯 80 为一系列聚合度并不确定的环氧乙烷的聚合物,其相对分子质量只是一个理论值,所以即使可以测定出分解产生的油酸含量,也难以准确反推出聚山梨酯 80 的量。分子排阻(SEC)法可将不同聚合度的聚山梨酯 80 作为一个总的组分分析,采用通用性蒸发光散射检测器可获得较好的响应值,故文献多采用 SEC-蒸发光散射(ELSD)法直接测定样品中聚山梨酯 80 的量。唐登峰等^[40]以纯度较高的聚山梨酯 80 试剂为对照,选用 TSK-GEL G2000 SWXL 凝胶柱分离,20 mmol/L 乙酸铵-乙腈(90:10)洗脱,ELSD 检测,建立了莪术油注射液中聚山梨酯 80 的测定方法。吴毅等^[41]、程世云等^[42]、高文分等^[43]、李樱红等^[44]、

尹利辉等^[45]、吴燕等^[46]、曲佳等^[47]采用相同方法测定了鱼腥草、新鱼腥草素钠、柴胡、复方麝香、醒脑静、冠心宁、岩黄连、鱼金、去感、参麦、复方蒲公英、复方当归、红花、苦木、香丹、白花蛇舌草、伊痛舒、骨痹敌、肿节风、热可、健骨、鸡屎藤、生脉、丹参等多种中药注射剂中聚山梨酯 80 的量。吴晓燕等^[48]采用 GF-250 柱,以 20 mmol/L 醋酸铵溶液-乙腈(90:1)为流动相,建立了脉络宁注射液中聚山梨酯 80 的含量测定方法。沈娟等^[49]经比较后发现 TSK-GEL G4000PWx1 色谱柱对聚山梨酯 80 的分离效果优于 TSK-GEL G2000 SWXL,采用该色谱柱分离,以水为流动相洗脱,建立了热毒宁注射液中聚山梨酯 80 的含量测定方法。作者还指出,中药注射液成分复杂,部分品种不适合直接加于凝胶柱进行分析,热毒宁注射液采用三氯甲烷萃取净化后可去除干扰。

曹静等^[50]分别采用比色法和 SEC-ELSD 法测定生脉注射液中聚山梨酯 80 含量,测得结果的差异无统计学意义,但 HPLC 法操作更简便,重复性更好,准确度更高。李建伟等^[51]对 HPLC-ELSD 法与硫氰酸钴铵显色-分光光度法加以比较,结果显示以水为空白,分光光度法测定结果偏高,与 HPLC 法存在显著性差异,以阴性样品为空白,测得结果无显著性差异。与复方苦参注射液中聚山梨酯 80 理论投料量比较,分光光度法测得结果偏高,HPLC-ELSD 法测定结果更接近理论值。王少敏等^[52]分别采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法与紫外-可见分光光度法测定黄芪注射液中聚山梨酯 80 含量。结果两种方法测得结果存在系数关系,即 HPLC-ELSD 法测得结果约为分光光度法的 0.65;与黄芪注射液中聚山梨酯 80 的理论值相比,HPLC-ELSD 法所测得值更为接近。

张锐等^[53]对 SEC-ELSD 法测定中药注射液中聚山梨酯 80 含量存在的不足进行探讨。采用定向合成及柱分离的手段,制备了聚山梨酯 80 主要所含的 8 类化学组分(PI、PIM、PID、PS、PSM、PSD、PSTri、PSTetra)的对照品,研究其在分子排阻色谱上的保留行为。经 TSK-GEL G2000 SWXL 分离,ELSD 检测,发现单个组分出峰时间各有不同又相互交叠,PIM 和 PS 均检出两个色谱峰。聚山梨酯 80 表现为两组未完全分离的色谱峰群,主要由 PSM 和 PSD 所组成,也包括部分的 PIM,这也是在 SEC-ELSD 法中被认为是聚山梨酯 80 的主

峰;后一组峰主要由PI、PIM、PS、PSM组成,在SEC-ELSD法中一般被忽略且未加以说明。而聚山梨酯80另外3类主要成分PID、PSTri、PSTetra在SEC-ELSD法的色谱条件下根本不能出峰。实验结果表明,聚山梨酯80作为一个由多结构类型组分所组成的混合物,将其作为1个总的组分,采用SEC-ELSD法定量分析存在问题。要使定量结果准确,前提条件是建立基于化学组成控制的聚山梨酯80药用辅料标准,统一不同厂家聚山梨酯80的化学组成,使其内在的每一个化学组分的含量保持一致,明确SEC-ELSD法测定聚山梨酯80的对照品质量溯源性和可靠性,而不是主观地选择某一厂家的聚山梨酯80作为对照品使用。

4.3 气相色谱法

与基于C₁₈柱的液相色谱法类似,李建伟等^[54]采用氢氧化钠溶液水解样品,定量释放出的油酸经三氟化硼催化酯化得油酸甲酯,利用DB-WAX毛细管柱分离,间接测定复方苦参注射液中聚山梨酯80的量。黄运中等^[55]采用相似的色谱条件建立了单抗制剂中聚山梨酯80的含量测定方法,在处理样品前,加入与油酸性质相似的十七碳酸作为内标,采用内标法计算含量,提高结果的重复性和准确度。

5 结语和展望

5.1 加强聚山梨酯80的物质基础研究

聚山梨酯80的主要成分和杂质的化学组分研究虽然已经取得了长足的进展,但其表面活性作用的机制和物质基础有待深入研究,各成分与溶血和致敏等不良反应的关系尚需进一步阐明。

5.2 提高聚山梨酯80产品的质量

文中综述的研究结果表明聚山梨酯80的质量参差不齐,注射用级别产品质量优于普通药用级产品,进口产品质量一般优于国产产品。建议生产企业应该优化生产工艺,提高产品纯度,降低杂质含量,最大限度地保障聚山梨酯80产品的安全性,从而提高注射剂的安全性。

5.3 降低和规范制剂中聚山梨酯80的使用

对于中药注射剂这类高风险品种,严格要求使用纯度较高的注射用聚山梨酯80投料,可缩小不同样品中辅料组分和含量的差异,从而为建立法定检测方法创造条件,还有助于降低不良反应的发生率。

参考文献

- [1] 陈振江. 中药注射剂中吐温-80的增溶机理及CMC测定[J]. 中成药, 1993, 15(6): 8-9.
- [2] 张明令, 张海燕, 丛英, 等. 吐温-80在水溶液中的表面活性研究[J]. 中成药, 2010, 32(1): 55-58.
- [3] 丛英, 张明令, 苏柘僮, 等. 中药注射剂用辅料吐温80的增溶适宜性研究[J]. 中成药, 2011, 33(3): 439-442.
- [4] 李伟, 李莉, 陈振江, 等. 中药注射剂中吐温-80的CMC测定[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(2): 181-183.
- [5] Singh S R, Zhang J, O'Dell C, et al. Effect of polysorbate 80 quality on photostability of a monoclonal antibody[J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2012, 13(2): 422-430.
- [6] Zdravkovic S A. Comparison of the solubilization properties of polysorbate 80 and isopropanol/water solvent systems for organic compounds extracted from three pharmaceutical packaging configurations[J]. Eur J Pharm Sci, 2016, 93: 475-483.
- [7] Yusuf M, Khan M, Khan R A, et al. Polysorbate-80-coated, polymeric curcumin nanoparticles for *in vivo* anti-depressant activity across BBB and envisaged biomolecular mechanism of action through a proposed pharmacophore model[J]. J Microencaps, 2016, 33(7): 646-655.
- [8] Serno T, Hrtl E, Besheer A, et al. The role of polysorbate 80 and HPβCD at the air-water interface of IgG solutions[J]. Pharm Res, 2013, 30(1): 117-130.
- [9] Tian X H, Lin X N, Wei F, et al. Enhanced brain targeting of temozolomide in polysorbate-80 coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles[J]. J Microencap, 2011, 6: 445-452.
- [10] 马鸿雁, 丛英, 张明令, 等. 中药注射剂中吐温80用量解析[J]. 亚太传统医药, 2010, 6(8): 17-18.
- [11] 马礼媛, 匡丽清, 王静, 等. 从维生素K1注射液不良反应/事件分析与其工艺助溶剂吐温的相关性[J]. 药学与临床研究, 2014, 22(2): 187-190.
- [12] 李帅, 王伟姣, 刘轶, 等. 聚山梨酯80对尼莫地平注射剂安全性的影响[J]. 中南药学, 2014, 12(10): 972-975.
- [13] 朱碧君, 李婷婷, 周志良, 等. 参麦注射液中吐温-80含量与溶血率的相关性试验研究[J]. 科技广场, 2010, 10: 71-73.
- [14] 牛慧玲, 李庆忠, 陈志勇, 等. 含吐温80的不同注射剂溶血试验研究[J]. 中国药品标准, 2012, 13(2): 108-111.
- [15] 李畅, 涂家生. 聚山梨酯80组分与其溶血性的关系[J]. 中国药科大学学报, 2012, 43(3): 231-235.
- [16] 贺煜星, 丁选胜. 吐温80体外溶血研究[J]. 安徽医

- 药, 2014, 18(3): 444-446.
- [17] 闫位娟, 李连达, 张美玉, 等. 含聚山梨酯80中药注射剂对 Beagle 犬致敏性研究 [J]. 中国新药杂志, 2010, 19(15): 1369-1375.
- [18] 李 帅, 王伟姣, 刘 轶, 等. 聚山梨酯80对尼莫地平注射剂安全性的影响 [J]. 中南药学, 2014, 12(10): 972-975.
- [19] 孙伟伟, 李贻奎, 张金艳, 等. 吐温80及其配制的鱼腥草注射液致豚鼠过敏反应的实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(1): 47-51.
- [20] 李 钦, 赵 吟, 郑晓亮, 等. 药用注射辅料聚山梨酯80诱发类过敏反应的细胞研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(5): 501-505.
- [21] 罗 霞, 王 青, 周 联, 等. 中药注射剂所含吐温-80与过敏反应关系的研究 [J]. 药物不良反应杂志, 2010, 12(3): 160-165.
- [22] 王云庭, 李春英, 易 艳, 等. 注射用与药用聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(吐温-80)类过敏反应比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(13): 1890-1893.
- [23] 孙会敏, 杨 锐, 栾 琳, 等. 聚山梨酯80质量分析与致敏原探究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(10): 1850-1855.
- [24] 程 欧, 高 鹏, 涂家生, 等. 吐温80质量与致敏性关系的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(3): 244-247.
- [25] 郭志鑫, 孙会敏, 杨 锐, 等. 药用辅料聚山梨酯80(吐温80)质量状况分析 [J]. 药学实践杂志, 2012, 30(6): 459-461.
- [26] 中国药典 [S]. 二部. 2015: 1246-1247.
- [27] 丛 英, 苏柘僮, 邹文铨, 等. 气相色谱法同时测定吐温80中7种脂肪酸亲油基的含量 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(4): 651-654.
- [28] 任 睿, 李坤丽, 张 璐, 等. 注射用聚山梨酯80中脂肪酸组成测定 [J]. 中国药物警戒, 2015, 12(8): 464-466.
- [29] 张 锐, 王 玉, 谭 力, 等. 吐温80的组分分析 [J]. 中国药学杂志, 2012, 47(2): 149-154.
- [30] Hvattuma E, YipW L, Grace D, et al. Characterization of polysorbate 80 with liquid chromatography mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy: Specific determination of oxidation products of thermally oxidized polysorbate 80 [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 62(2): 7-16.
- [31] 张 锐, 王 玉, 石蓓佳, 等. HPLC/ELSD测定聚山梨酯80中聚醚组成及油酸含量 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(6): 994-998.
- [32] 栾 琳, 杨 锐, 汤 龙, 等. 毛细管气相色谱法测定吐温80中氯乙醇、乙二醇、二甘醇的含量 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1869-1872.
- [33] 沈 娟, 张 桥, 郭 瑛, 等. 吐温80中乙二醇与二甘醇的检测分析 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2011, 13(6): 1118-1121.
- [34] 万晓君, 郭 青. 脉络宁注射液及吐温80辅料中三种有害杂质的筛选和测定 [J]. 中国药事, 2016, 30(12): 1289-1297.
- [35] 杨 锐, 孙会敏, 袁 松, 等. 过氧化氢酶间接碘量法测定吐温80中过氧化氢的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(6): 1040-1042.
- [36] 刘燕梅, 蒲旭峰, 张 良, 等. 比色法测定鱼腥草注射液中聚山梨酯80含量 [J]. 中国药品标准, 2008, 9(6): 434-437.
- [37] 吴春丽, 李爱星, 李杰明, 等. 紫外-可见分光光度法测定鱼腥草注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 中国药房, 2012, 23(40): 3823-3825.
- [38] Adamoc M, Dick Jr L W, Qiu D F, et al. A simple reversed phase high-performance liquid chromatography method for polysorbate 80 quantitation in monoclonal antibody drug products [J]. J Chromatogr B, 2010, 878(21): 1865-1870.
- [39] 李建伟, 聂 磊, 柴青叶. HPLC法测定复方苦参注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 中国药师, 2013, 16(2): 244-247.
- [40] 唐登峰, 祝 明, 陈碧莲, 等. HPLC-ELSD测定莪术油注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(5): 462-465.
- [41] 吴 毅, 梁成罡, 金少鸿, 等. SEC-ELSD法测定中药注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(1): 12-15.
- [42] 程世云, 徐国兵. HPLC-ELSD法测定复方麝香注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 安徽医药, 2014, 18(3): 458-460.
- [43] 高文分, 袁文娟, 王 梅. HPLC-ELSD法测定醒脑静注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 云南中医中药杂志, 2012, 33(7): 59-60.
- [44] 李樱红, 黄琴伟, 祝 明, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射法测定冠心宁注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(5): 826-828.
- [45] 尹利辉, 范可青, 朱 俐, 等. 凝胶色谱-蒸发光散射检测法检测中药注射剂中吐温80的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1686-1689.
- [46] 吴 燕, 李华龙, 米亚娴. 中药注射剂中吐温80的定性定量测定研究 [J]. 天津药学, 2011, 23(6): 3-5.
- [47] 曲 佳, 高国旗, 王智皓, 等. 中药注射液中吐温80的含量测定 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2015, 2(20): 4071-4072.
- [48] 吴晓燕, 郭 青, 狄留庆. 脉络宁注射液中聚山梨酯

- 80 的含量测定与安全性分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(7): 554-556.
- [49] 沈娟, 张桥, 李家春, 等. 高效凝胶色谱串联蒸发光散射检测器测定热毒宁注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2915-2917.
- [50] 曹静, 于建东, 郑笑为, 等. 生脉注射液中聚山梨酯80含量测定 [J]. 中国药师, 2013, 16(9): 1377-1379.
- [51] 李建伟, 周红军, 聂磊, 等. 两种方法测定复方苦参注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(15): 54-57.
- [52] 王少敏, 夏晶, 陈洁, 等. 黄芪注射液中药用辅料聚山梨酯80两种含量测定方法的比较研究 [J]. 齐鲁药事, 2011, 30(1): 19-21.
- [53] 张锐, 王玉, 高正松, 等. 中药注射液中聚山梨酯80含量测定方法的研究 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(11): 990-993.
- [54] 黄运中, 杨彬, 叶驰名, 等. 单抗制剂中聚山梨酯80含量气相色谱检测方法的建立 [J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 29(2): 201-205.
- [55] 李建伟, 赵莹, 聂磊. GC法测定复方苦参注射液中聚山梨酯80的含量 [J]. 药物分析杂志, 2011, 16(10): 1993-1995.