

LC-MS/MS 测定注射用头孢噻肟钠包装所用胶塞中抗氧化剂 1076 的迁移量

刘兴兰, 王晓兰, 杨婧

(四川省食品药品检验检测院, 成都 611731)

摘要 目的: 建立用 LC-MS/MS 测定抗氧化剂 1076 的含量测定方法。方法: 采用 Eclipse Plus C₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm) 色谱柱; 流动相: 0.1% 甲酸-甲醇 (2:98); 柱温: 35 °C; 离子源: A-PCI 源。结果: 抗氧化剂 1076 在 0.269~21.52 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好, 相关系数为 0.999 3, 平均回收率为 95.5%, RSD 为 3.5%, 检出限为 0.001 μg · mL⁻¹。结论: 该方法灵敏度高, 检出限低, 可用于药品中抗氧化剂 1076 的迁移量测定。

关键词: 液相色谱-质谱; 注射用头孢噻肟钠; 胶塞; 抗氧化剂 1076; 迁移量

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2017) 11-2101-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.11.29

Determining migration of antioxidant 1076 in the packing rubber plug of cefotaxime sodium for injection by LC-MS/MS

LIU Xing-lan, WANG Xiao-lan, YANG Jing

(Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611731, China)

Abstract Objective: To establish a method for the determination of the content of antioxidant 1076 by the LC-MS/MS. **Methods:** Using ZORBAX Eclipse Plus C₈ column (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm); Mobile phase: The 0.1% formic acid and methanol was 2:98; Column temperature was 35 °C; Ion source: A-PCI source. **Results:** The linearity was good between 0.269 μg · mL⁻¹–21.52 μg · mL⁻¹. The correlation coefficient was 0.999 3. The average recovery rate was 95.5%, RSD was 3.5% and the detection limit was 0.001 μg · mL⁻¹. **Conclusion:** This method has high sensitivity and low detection limit, thus can be used for the determination of migration quantity of antioxidant 1076 from medicine packaging migration to drugs.

Keywords: LC-MS/MS; cefotaxime sodium for injection; rubber plug; antioxidant 1076; migration quantity

注射用粉针的药品包装材料会用到药用丁基胶塞, 药用丁基胶塞里成分复杂^[1], 会添加抗氧化剂, 注射用头孢噻肟钠所用胶塞里添加了抗氧化剂 1076, 抗氧化剂迁移量的检查方法有文献报道采用 HPLC 法, 药

液通过固相萃取的方法检测^[2-4], 抗氧化剂 1076 未见采用高效液相色谱-质谱方法进行迁移量的测定报道, LC-MS 联用技术成为杂质分析中广泛采用的方法^[5], LC-MS 联用技术集 HPLC 高效的分离能力和

MS 优越的定性能力于一体,对于迁移量微量检测灵敏高效^[6]。本文采用高效液相色谱进行胶塞中抗氧化剂的提取试验^[7-9],用高效液相色谱-质谱的方法检测抗氧化剂的迁移量,通过考察阴凉处储存的药品与加速试验的药品中抗氧化剂的迁移量,发现了抗氧化剂 1076 的迁移规律,对药物储存条件和胶塞的筛选提供参考。

1 仪器与试剂

仪器: LC Waters 2695-2998 Photodiode Array Detector (二极管阵列检测器);

LC-MS 5500 Triple Quad, 生产厂家: AB SCIEX; 配套高效液相色谱 Shimadzu Lc 30A- 超高效液相色谱仪。

对照品: 抗氧化剂 1076: CAS 号: 2082 - 79 - 3, 批号: Lot MKBH7224V, 含量 99%。

药品: 注射用头孢噻肟钠由某生产企业提供在阴凉处放置 12 个月和温度 40 °C、湿度 75% 条件下放置了 0 月、3 月、6 月的相容性试验样品, 规格: 每瓶 1.0g, 批号 141101、141102、141103。

水为超纯水; 甲醇、无水乙醇为色谱纯; 二氯甲烷为分析纯。

2 胶塞中抗氧化剂的提取试验

2.1 色谱条件

采用 Waters symmetryshield RP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶) 色谱柱; 流动相: 甲醇; 柱温: 35 °C; 流速: 1.0 mL · min⁻¹, 柱温: 35 °C, 检测波长: 276 nm。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取抗氧化剂 1076 适量置 50 mL 量瓶中, 加二氯甲烷 2 mL 溶解, 加无水乙醇稀释至刻度, 再作适宜的稀释即得。

2.3 供试品溶液的制备

参照欧洲药典^[10]的提取方法, 取胶塞样品剪成 0.5 cm × 0.5 cm 的碎片, 精密称取 5.026 0 g 置具塞锥形瓶中, 加入 80 mL 甲苯回流 4 h, 趁热加甲醇 20 mL, 搅拌, 用玻砂漏斗过滤, 用甲醇-甲苯 (6:4) 混合溶液洗涤容器和滤渣, 取滤液水浴挥干。用适量二氯甲烷-无水乙醇 (4:6, v/v) 混合液溶解洗脱并定容至 10 mL 量瓶中, 用 0.45 μm 滤膜过滤即得供试品溶液。

2.4 测定

分别取对照品溶液及供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪, 按外标法以峰面积计算, 样品测定结果含抗氧化剂 1076 为 0.01% (w/w)。对照品、样品色谱图见图 1。

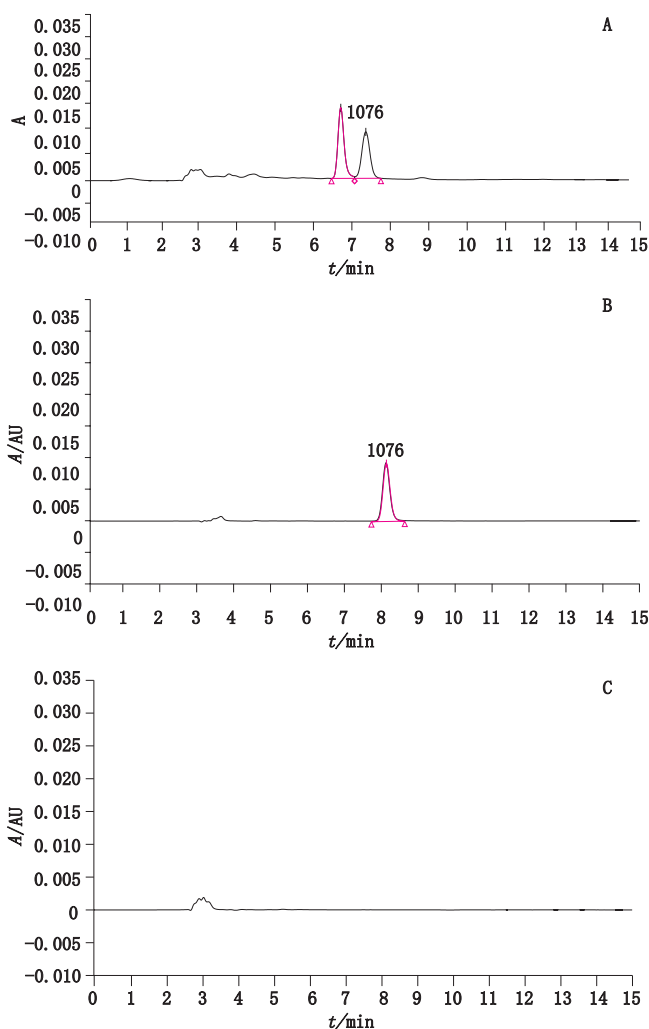


图 1 注射用头孢噻肟钠胶塞抗氧化剂提取样品 (A)、抗氧化剂 1076 对照品 (B) 和空白溶剂 (C) 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of antioxidant extraction sample of cefotaxime sodium for injection rubber stopper (A), antioxidant 1076 reference substance (B) and blank solvent (C)

3 药品中抗氧化剂 1076 的迁移量测定

3.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C₈ 柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm, 填料: 辛烷基硅烷键合硅胶); 流动相: 0.1% 甲酸-甲醇 (2:98), 流速: 0.2 mL · min⁻¹, 柱温: 35 °C; 离子源: A-PCI 源 正离子模式 MRM, 设置参数见表 1, 进样量: 1 μL。化合物参数: 10 761 定量离子, 10 762 定性离子。

3.2 溶液的制备

3.2.1 对照品溶液 精密称取抗氧化剂 1076 [β-(3, 5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸十八碳醇] 0.021 04 g 置 50 mL 量瓶中, 加二氯甲烷 2 mL 溶解, 加无水乙醇稀释至刻度为 S₀, 精密量取 S₀ 适量用无水乙醇进

表 1 MRM 参数设置

Tab. 1 MRM parameters

ID 名称 (name)	Q1 质量 (mass)	Q3 质量 (mass)	驻留时间 (dwell)	参数 (parameter)	起始 (start)	结束 (stop)
10761	530.3	515.2	50.0	DP	150.00	150.00
				CE	27.00	27.00
10762	530.3	147.1	50.0	DP	150.00	150.00
				CE	42.00	42.00

行逐级稀释配制成 $S_1 \sim S_7$, 质量浓度为 0.269、0.538、1.076、2.152、5.38、10.76、21.52 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。对照品色谱图见图 2。

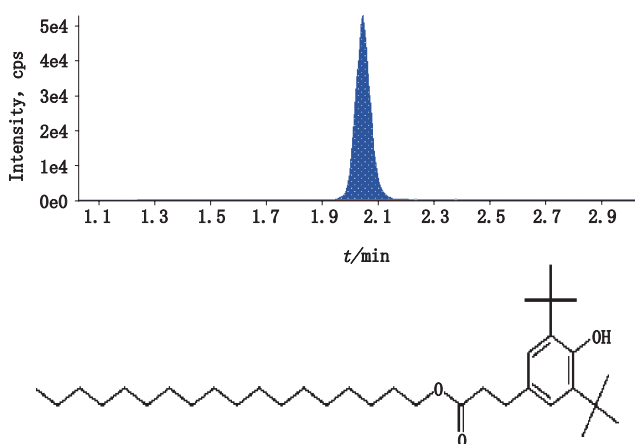


图 2 抗氧化剂 1076 对照品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of reference substance of antioxidant 1076

3.2.2 供试品溶液 取 5 瓶供试品倒出置称量瓶中, 混匀, 称取 1.000 g 置 10 mL 量瓶中, 水 10 mL 振摇使溶解后, 稀释至刻度即得供试品溶液。样品色谱图见图 3。

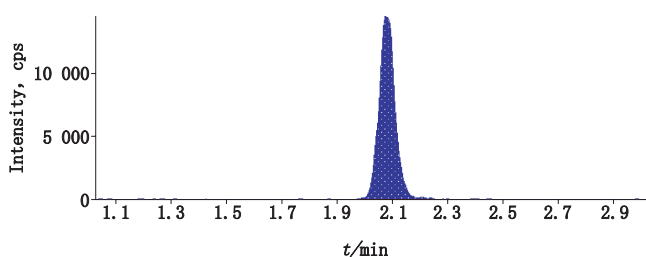


图 3 注射液头孢噻肟钠中抗氧化剂 1076 迁移色谱图

Fig. 3 Chromatogram of antioxidant 1076 in cefotaxime sodium injection

3.3 线性

取“3.2.1”项下抗氧化剂 1076 对照品溶液测定, 以

峰面积为纵坐标 Y , 以浓度为横坐标 X , 绘制标准曲线, 得线性方程:

$$Y = 2.094 \times 10^4 X + 2.689 \times 10^3 \quad r = 0.9993$$

抗氧化剂 1076 在 0.269~21.52 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性良好。

3.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定其峰面积, 抗氧化剂 1076 的 RSD 为 3.9%。

3.5 稳定性试验

精密吸取对照品溶液, 分别在 0、24 h 进行测定, RSD 为 4.04%, 抗氧化剂 1076 溶液 24 h 内稳定。

3.6 回收率试验

按“3.2.2 项下”方法制备供试品溶液, 称取 1.000 g 置 10 mL 量瓶中, 分别加入抗氧化剂 1076 对照品溶液 1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL, 加水至刻度, 振摇使溶解, 测定。同法平行试验 9 份平均回收率 ($n=9$) 为 95.5%, RSD 为 3.5%。

3.7 重复性试验

取批号 141101 3 月的样品, 按“3.2.2”的方法制备供试品溶液 6 份, 测定结果平均为 3.7 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 3.9%。

3.8 检出限

将对照品溶液做适当稀释, 检出限信噪比按 3:1, 定量限信噪比按 10:1 计算, 检出限为 0.001 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 定量限为 0.004 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3.9 样品的测定

取在温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 75% 条件下放置 0、3、6 月和阴凉处放置 12 月的 3 批样品测定。结果见表 2。

3.10 溶液的澄清度检查

取样品 1 瓶加水 10 mL 振摇溶解后, 溶液与 1 号浊度标准液比较, 结果见表 3, 小于 1 号浊度标准液为合格, 大于 1 号浊度标准液为不合格。

表 2 供试品中抗氧化剂 1076 迁移结果 (%)

Tab. 2 Migration of antioxidant 1076 in the test sample

批号 (lot number)	0 月 (month)	阴凉处放置 12 月 (shady place for 12 months)	加速 3 月 (accelerated for 3 months)	加速 6 月 (accelerated for 6 months)
141101	未检出 (not detected)	0.000 4	0.002 2	0.002 0
141102	未检出 (not detected)	0.001 0	0.001 6	0.002 9
141103	未检出 (not detected)	0.000 4	0.002 3	0.002 2

表 3 澄清度结果

Tab. 3 Results of clarification

批号 (lot number)	0 月 (month)	阴凉处放置 12 月 (shady place for 12 months)	加速 3 月 (accelerated for 3 months)	加速 6 月 (accelerated for 6 months)
141101	小于 1 号 (less than 1)	小于 1 号 (less than 1)	大于 1 号 (more than 1)	大于 1 号 (more than 1)
141102	小于 1 号 (less than 1)	小于 1 号 (less than 1)	大于 1 号 (more than 1)	大于 1 号 (more than 1)
141103	小于 1 号 (less than 1)	小于 1 号 (less than 1)	大于 1 号 (more than 1)	大于 1 号 (more than 1)

4 讨论

4.1 迁移与温度

从表 1 数据分析,注射用头孢噻肟钠药品里检出了抗氧化剂 1076,在阴凉处放置 12 个月样品中抗氧化剂 1076 的迁移量比 40 ℃加速试验 3 个月和 6 个月的迁移量要小,抗氧化剂迁移的运动轨迹与温度有关^[11],温度高加速迁移^[12],注射用头孢噻肟钠的储存温度会影响抗氧化剂的迁移量。

4.2 迁移与时间

抗氧化剂 1076 迁移量在 40 ℃3 个月与 6 个月无明显增加,说明药品与胶塞接触,抗氧化剂易发生迁移,到达一定时间后迁移量可能会达到平衡^[13]。

4.3 迁移与放置的位置

在 0~6 月的加速试验放置过程中采用正立,倒置,侧放的方法,整个注射用瓶里充满了头孢噻肟钠药粉,胶塞上粘满了药品,药品与胶塞的凹凸面充分接触。解决办法改进胶塞^[14],使用全部覆膜胶塞^[15],覆膜材料不添加抗氧化剂,对于头孢噻肟钠类粉针比较适用。

参考文献

- [1] 赵霞,胡昌勤,金少鸿. 药用丁基胶塞中易挥发性成分的成分分析[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(3): 315
ZHAO X, HU CQ, JIN SH. The analysis of volatile substances of butyl rubber closures[J]. Chin J Pharm Anal, 2006, 26(3): 315
- [2] 李兴春,路杰,李洁,等. HPLC 法测定高密度聚乙烯桶包装血液透析浓缩液中抗氧化剂 1010、抗氧化剂 330、抗氧化剂 1076、抗氧化剂 168 的含量[J]. 药学研究, 2016, 35(2): 86
LI XC, LU J, LI J, et al. Determination of antioxidant 1010, antioxidant 330, antioxidant 1076 and antioxidant 168 in high density polyethylene barrels for blood dialysis concentrate packing by HPLC[J]. J Pharm Res, 2016, 35(2): 86
- [3] 黄萍,刘兴兰. SPE-HPLC 法测定三层共挤输液袋中抗氧化剂在氧氟沙星氯化钠注射液中的迁移量[J]. 中国药师, 2016, 19(12): 2267
HUANG P, LIU XL. Determination of antioxygen migration amount in ofloxacin and sodium chloride injection from three-layer coextrusion infusion bags by SPE-HPLC[J]. China Pharm, 2016, 19(12): 2267
- [4] 张芦燕,王曼泽,王翔宇. 聚丙烯瓶装氯化钠注射液中抗氧化剂迁移量的测定[J]. 西北药学杂志, 2013, 28(6): 583
ZHANG LY, WANG MZ, WANG XY, et al. Determination of the

- migration of antioxidant in sodium chloride injections packed by polypropylene infusion bottles [J]. Northwest Pharm J, 2013, 28 (6): 583
- [5] 陈晓雨,李银峰,林秀云等. LC-MS 技术在化学药杂质分析中的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29 (6): 696
CHEN XY, LI YF, LIN XY, *et al.* Research progress on analysis on impurity in chemical drug by LC-MS technology [J]. Drugs Clin, 2014, 29 (6): 696
- [6] 洗燕萍,郭新东,穆同娜,等. 食品接触塑料容器中限用荧光增白剂 184 和 393 的迁移行为研究 [J]. 质谱学报, 2014, 35 (6): 530
XIAN YP, GUO XD, MU TN, *et al.* Study on migration of the restricted fluorescent whitening agent 184 and 393 in food contact plastic container [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2014, 35 (6): 530
- [7] 王文刚,吴艳,暴钦,等. 新型载药容器中添加剂的提取试验研究 [J]. 解放军药科学学报, 2016, 32 (3): 215
WANG WG, WU Y, BAO Y, *et al.* Extraction of additives in drug loading container of a novel syringe [J]. Pharm J Chin PLA, 2016, 32 (3): 215
- [8] 朱碧君,胡红刚,李婷婷,等. HPLC 法测定聚丙烯输液瓶中抗氧化剂 1010、抗氧化剂 1076、抗氧化剂 168、抗氧化剂 330 的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32 (3): 416
ZHUI BJ, HU HG, LI TT, *et al.* HPLC determination of antioxidant 1010, antioxidant 1076, antioxidant 168 and antioxidant 330 in polypropylene infusion bottles [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32 (3): 416
- [9] 王悦雯,陈蕾,冯靖,等. 三层共挤输液用袋的添加剂测定和迁移量测定 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36 (1): 138
WANG YW, CHEN L, FENG J, *et al.* Determination of additives of three-layer co-extrusion bags used for infusion and the migration of additives [J]. Chin J Pharm Anal 2016, 36 (1): 138
- [10] EP 5.0 [S]. 2010: 282
- [11] 林晨煦,高丹玲. 注射用头孢唑林钠与卤化丁基胶塞相容性的加速试验 [J]. 海峡药学, 2011, 23 (1): 54
LIN CX, GAO DL. Acceleration test of compatible of cefazolin sodium for injection and halogenated butyl rubber stopper [J]. Strait Pharm J, 2011, 23 (1): 54
- [12] 刘成红,魏立平,罗小茹,等. 注射用盐酸头孢替安与胶塞相容性研究 [J]. 药物评价研究, 2014, 37 (5): 420
LIU CH, WEI LP, LUO XR, *et al.* Compatibility between rubber closures and cefotiam hydrochloride for injection [J]. Drug Eval Res, 2014, 37 (5): 420
- [13] 胡长鹰,黄有红. HDPE 膜中抗氧化剂 1076 向替代脂肪类食品模拟物迁移的研究 [J]. 食品工业科技, 2009, 30 (02): 244
HU CY, HUANG XH. Study on migration of antioxidant 1076 from HDPE film to fatty food simulacrum [J]. Sci Technol Food Ind, 2009, 30 (02): 244
- [14] 赵霞,胡昌勤,金少鸿. 对考察药用丁基胶塞与药物相容性的思考与建议 [J]. 中国药事, 2007, 21 (10): 810
ZHAO X, HU CQ, JIN SH. Consideration and suggestion to estimate the compatibility between rubber closures and drugs [J]. Chin Pharm Aff, 2007, 21 (10): 810
- [15] 李立根,张毅兰. 药用胶塞及其与药品的相容性简述 [J]. 中国医药工业杂志, 2015, 46 (12): 1366
LI LG, ZHANG YL. Review of rubber stoppers for pharmaceutical use and its compatibility with pharmaceutical products [J]. Chin J Pharm, 2015, 46 (12): 1366

(本文于 2017 年 9 月 6 日收到)