

HPLC 法测定胶塞中抗氧化剂 1076 向米卡芬净钠注射液中的迁移

蒲小聪, 陈蕊, 游延军

(四川省食品药品检验检测院, 成都 611731)

摘要 目的: 建立检测胶塞中抗氧化剂 1076 向注射用米卡芬净钠药液中迁移量的监测方法。**方法:** 采用以二乙烯基苯聚合物为填料的固相萃取小柱 (HLB 200 mg/6 mL, 30PK), 用二氯甲烷: 无水乙醇 (2:3) 5 mL 进行洗脱。采用 XTerra C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (98:2), 流速 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 37 °C; 检测波长 277 nm; 进样量: 20 μL。**结果:** 抗氧化剂 1076 在浓度为 1~100 μg · mL⁻¹ 的范围内结果呈线性, 线性关系良好 ($r=0.999\ 9$), 平均加样回收率为 98.1 %, RSD 为 1.0 % ($n=9$)。精密度、稳定性、重复性均符合有关规定。各批号样品及在温度 40 °C, 相对湿度 75 % 的环境中经过 6 个月高温高相对湿度加速试验的样品中均未检测出抗氧化剂 1076。**结论:** 该方法灵敏、快速、准确、重复性好, 经方法学验证, 可用于胶塞中抗氧化剂 1076 向注射用米卡芬净钠药液中迁移量的监测。

关键词: 丁基胶塞; 药物药包材相容性; 米卡芬净钠; 抗氧化剂迁移; β-(4-羟基-3,5-二叔丁基苯基)丙酸十八醇酯; 高效液相色谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2017) 07-1298-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.07.21

HPLC determination for migration of antioxidant 1076 from rubber stopper to micafungin sodium injection

PU Xiao-cong, CHEN Rui, YOU Yan-jun

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

Abstract Objective: To establish a HPLC method for monitoring the migration of antioxidant 1076 from rubber stopper to micafungin sodium injection. **Method:** Using the method of solid phase extraction column, packing with 2-Propenoic acid polymer with diethenylbenzene (HLB 200 mg/6 mL, 30 PK), and 5 mL of dichloromethane to ethanol (2:3) was 5 mL to elute. XTerra C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with methyl alcohol-water (98:2) as flow phase. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, the column temperature was 37 °C, the detection wavelength was 277 nm and the sample volume was 20 μL. **Result:** Antioxidant 1076 showed good linear relationship in range of 1-100 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 98.1%, and RSD was 1.0% ($n=9$). Precision, stability, repeatability are in line with the relevant provisions. Antioxidant 1076 was not detected in each batch of samples, including the samples after six months of high temperature and high relative humidity accelerated test at the temperature of 40 °C and the humidity 75% were not detected

in antioxidant 1076. **Conclusion:** The method is sensitive, rapid and accurate with good repeatability, which can be used to determine the migration of antioxidant 1076 from rubber stopper to micafungin sodium injection.

Keywords: rubber stopper; compatibility between drug and the container; micafungin sodium injection; antioxidant migration; octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate; HPLC

丁基胶塞是药品包装中瓶装密封材料的重要组成部分。一般情况下药用丁基胶塞在使用过程中直接与药物接触,虽然丁基橡胶具有良好的气密性和化学惰性,但在使用过程中,仍然存在与药物的相互作用,甚至影响药物的物化性质和药理作用^[1-3]。试验表明,橡胶塞与注射液接触时,可能会出现橡胶塞吸收注射剂中的有效成分或者橡胶塞中的成分也可能被浸出至溶液中。这些浸出物可能会干扰有效成分的分析,使注射液产生毒性或热原,与药物的抗菌防腐剂相互作用导致失效,影响制剂的化学和物理稳定性^[4-6]。

试验表明,橡胶塞与橡胶制品在加工、贮存或使用过程中,会受到热、氧、光等环境因素的影响而逐渐发生物理及化学变化,使其性能下降,并失去使用价值,这种现象称为橡胶的“老化”^[7-10]。为了获得经久耐用的橡胶制品,就要在胶料配方中加一些能抑制导致橡胶老化的物质,这类物质统称“防老剂”^[11-13]。在胶塞的贮存过程中,这些物质不可避免的会迁移到胶塞表面,从而影响或者污染药物。因此,考察药物与其包装材料的相容性成为一项迫切的任务^[14-16]。

本文采用 HPLC 法测定胶塞中抗氧剂 β -(4-羟基-3,5-二叔丁基苯基)丙酸十八醇酯(即抗氧剂 1076)向注射用米卡芬净钠药液中的迁移。该方法检出限低,污染小,前处理过程简单,方法可靠,为药包材的质量研究以及药物与药包材的相容性试验提供参考。

1 仪器与试剂

LC-20A, 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 2695-2489/2998 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)。固相萃取小柱: HLB 200 mg/6 mL, 30 PK, 以二乙烯基苯聚合物为填料, (美国月旭公司)。XTerra C₁₈ 色谱柱(5 μ m, 4.6 mm $\times$ 150 mm), 以十八烷基硅烷键合硅胶为填料(美国沃特世公司); 抗氧剂 1076(β -(4-羟基-3,5-二叔丁基苯基)丙酸十八醇酯): 美国 SIGMA-ALDRICH 公司, 批号: Lot MKBH7224V, 含量 99%。无水乙醇, 分析纯, 成都市科龙化工试剂厂, 批号: 2015012801; 二氯甲烷, 分析纯, 成

都长联化工试剂有限公司, 批号: 20110518; 甲醇, 色谱纯, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 批号: 144639; 甲苯, 分析纯, 成都市科龙化工试剂厂, 批号: 2014022801。注射用冷冻干燥用卤化丁基橡胶塞(溴), 已知其抗氧剂 1076 含量为 0.1%, 规格: 20-D2-2, 批号: S130300201。注射用米卡芬净钠, 规格: 按 C₅₆H₇₀N₉NaO₂₃S 计为 50 mg/10 mL, 批号: 140401、140402、140403。

2 方法与结果

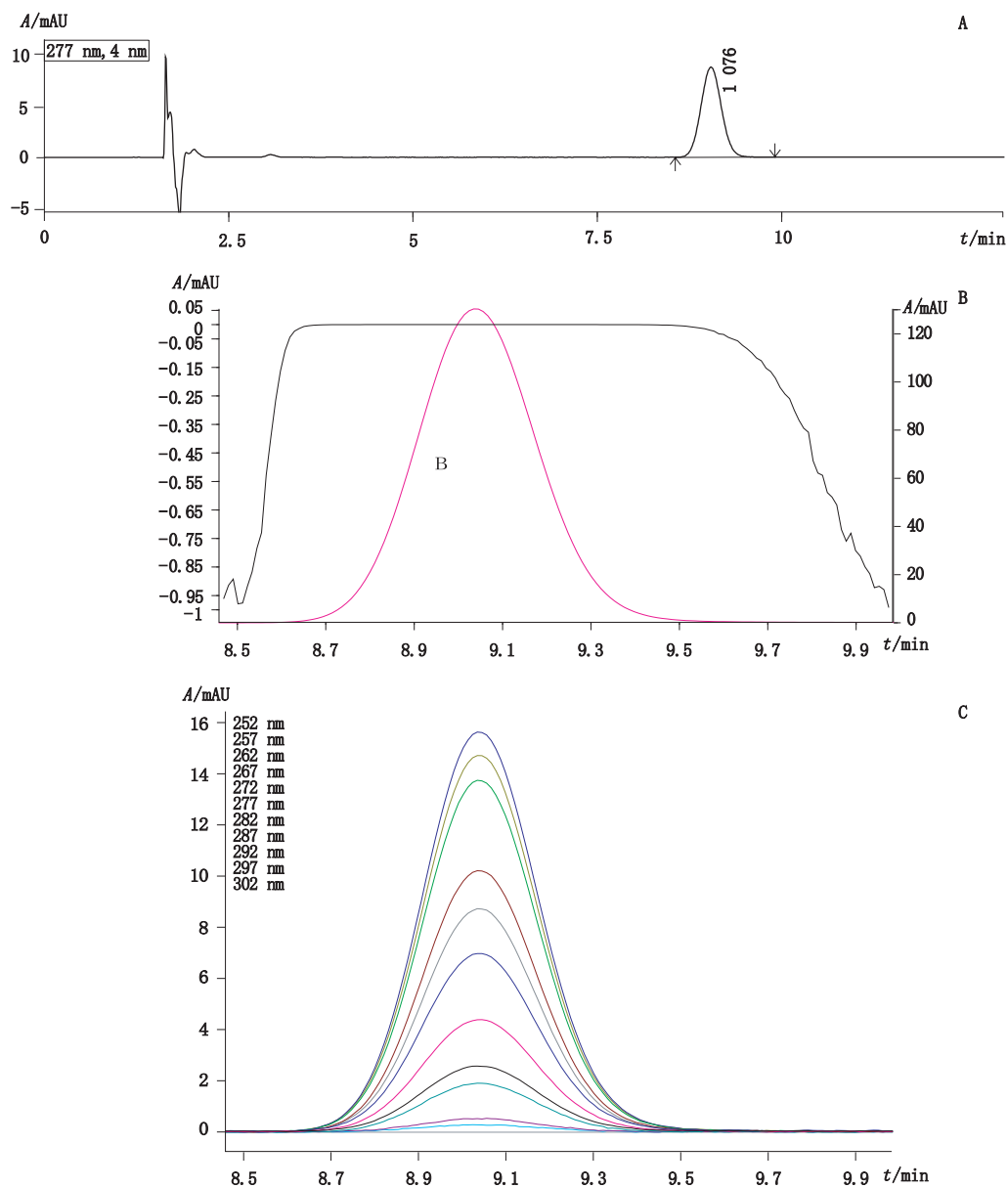
2.1 色谱条件与专属性试验 色谱柱: Waters XTerra C₁₈ 柱(5 μ m, 4.6 mm $\times$ 150 mm), 以十八烷基硅烷键合硅胶为填料; 流动相: 甲醇: 水(98:2); 流速: 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹; 柱温: 37 $^{\circ}$ C; 测定波长: 277 nm。空白溶剂无干扰, 系统适应性符合中国药典的规定, 理论塔板数大于 1 000。抗氧剂 1076 对照品色谱图、二氯甲烷色谱图、无水乙醇色谱图、甲醇色谱图、米卡芬净钠色谱图、胶塞中 1076 色谱图分别见图 1~6。

2.2 供试品溶液的制备 根据每日最大剂量不超过 300 mg 的使用说明, 取注射用米卡芬净钠样品 6 瓶(每瓶含米卡芬净 50 mg), 每瓶各加入 5.00 mL 超纯水溶解后, 混合均匀, 以 1~2 mL $\cdot$ min⁻¹ 的流速缓慢过柱, 加水 3 mL 冲洗小柱, 抽干, 用二氯甲烷: 无水乙醇(2:3) 5 mL 洗脱小柱, 洗脱液用二氯甲烷: 无水乙醇(2:3) 定容至 5 mL。滤过, 即得。

2.3 线性关系考察 精密称取 1076 对照品(含量 99%) 50.51 mg 于 50 mL 量瓶中, 用 5 mL 二氯甲烷溶解, 再用无水乙醇稀释至刻度, 制成 1 000 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的对照品溶液 A。分别吸取对照品 A 溶液 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 mL 置 100 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 制得浓度分别为 1、2、5、10、20、50、100 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的线性系列溶液。精密吸取该系列溶液各 20 μ L 进样, 记录色谱图, 绘制峰面积与对照品溶液浓度的标准曲线, 回归方程为:

$$Y = 3.670 \times 10^3 X - 210.47 \quad r = 0.9999$$

1076 溶液在 1~100 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的范围内与色谱峰面积线性关系良好。



A. 色谱图 (chromatogram) B. 峰纯度 (purity figure) C. 峰轮廓 (peak profile)

图 1 1076 对照品图谱

Fig. 1 The spectrogram of antioxidant 1076

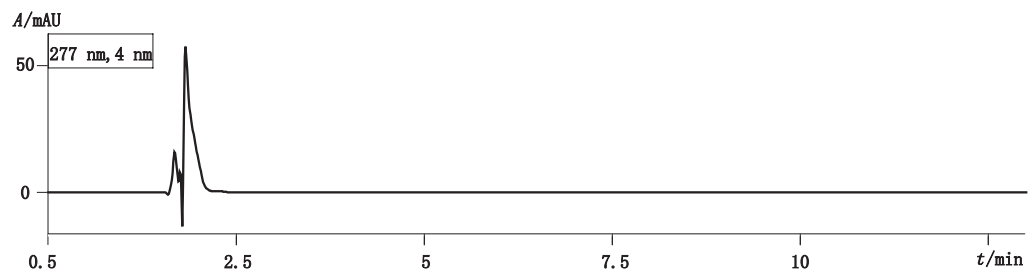


图 2 二氯甲烷色谱图

Fig 2 The chromatogram of dichloromethane

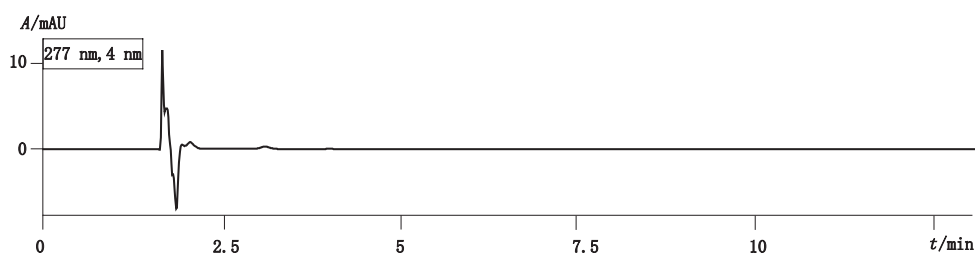


图3 无水乙醇色谱图

Fig3 The chromatogram of absolute ethyl alcohol

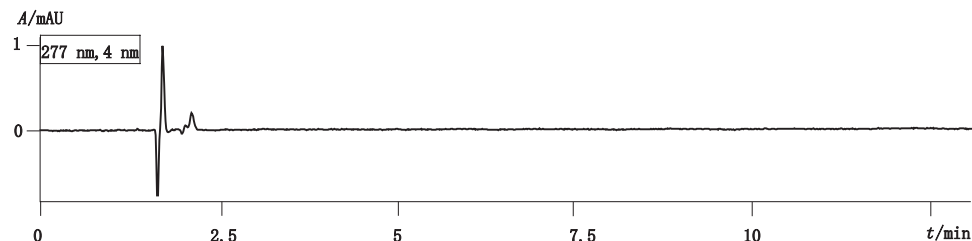


图4 甲醇色谱图

Fig 4 The chromatogram of methyl alcohol

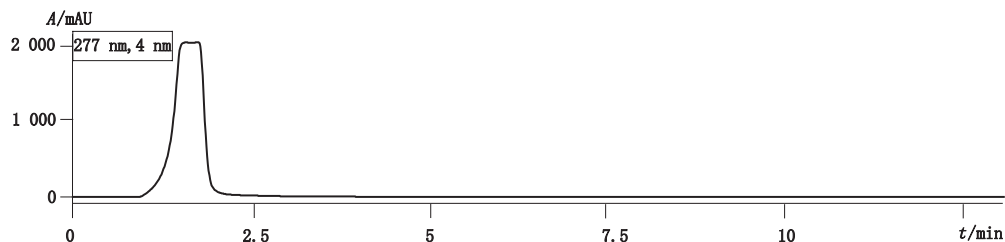


图5 米卡芬净钠色谱图

Fig 5 The chromatogram of micafungin sodium

2.4 精密度试验 精密量取对照品溶液 20 μL , 进样 6 次, 结果峰面积的 $\text{RSD}=0.10\%$, 说明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 将对照品溶液放置 0、4、12、24、48 h, 分别取 20 μL 进样, 峰面积的 $\text{RSD}=1.6\%$, 表明对照品溶液放置 48 h 稳定。

2.6 回收率试验 按“2.2”项下的方法制备供试品溶液, 在小柱中加入注射用米卡芬净钠的同时, 分别精密加入“2.3”项下制备的浓度为 5、10、20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的线性系列溶液各 100 μL , 每个浓度平行试验 3 份。抗氧化剂 1076 的平均回收率为 ($n=9$) 98.1%, 峰面积的 $\text{RSD}=1.0\%$, 回收率好。

2.7 重复性试验 按“2.2”项下的方法制备供试品溶液, 在小柱中加入注射用米卡芬净钠的同时, 分别精密加入“2.3”项下制备的对照品 A 溶液 100 μL , 平行试验 6 份, 抗氧化剂 1076 的平均回收率为 ($n=6$) 98.6%, 峰面积 $\text{RSD}=0.83\%$, 方法重复性良好。

2.8 耐用性试验 作线性试验时采用了美国 Waters2695-2489 和日本岛津 LC-20A 高效液相色谱

仪两种仪器, 均能得到良好的线性曲线, 说明方法耐用性良好。

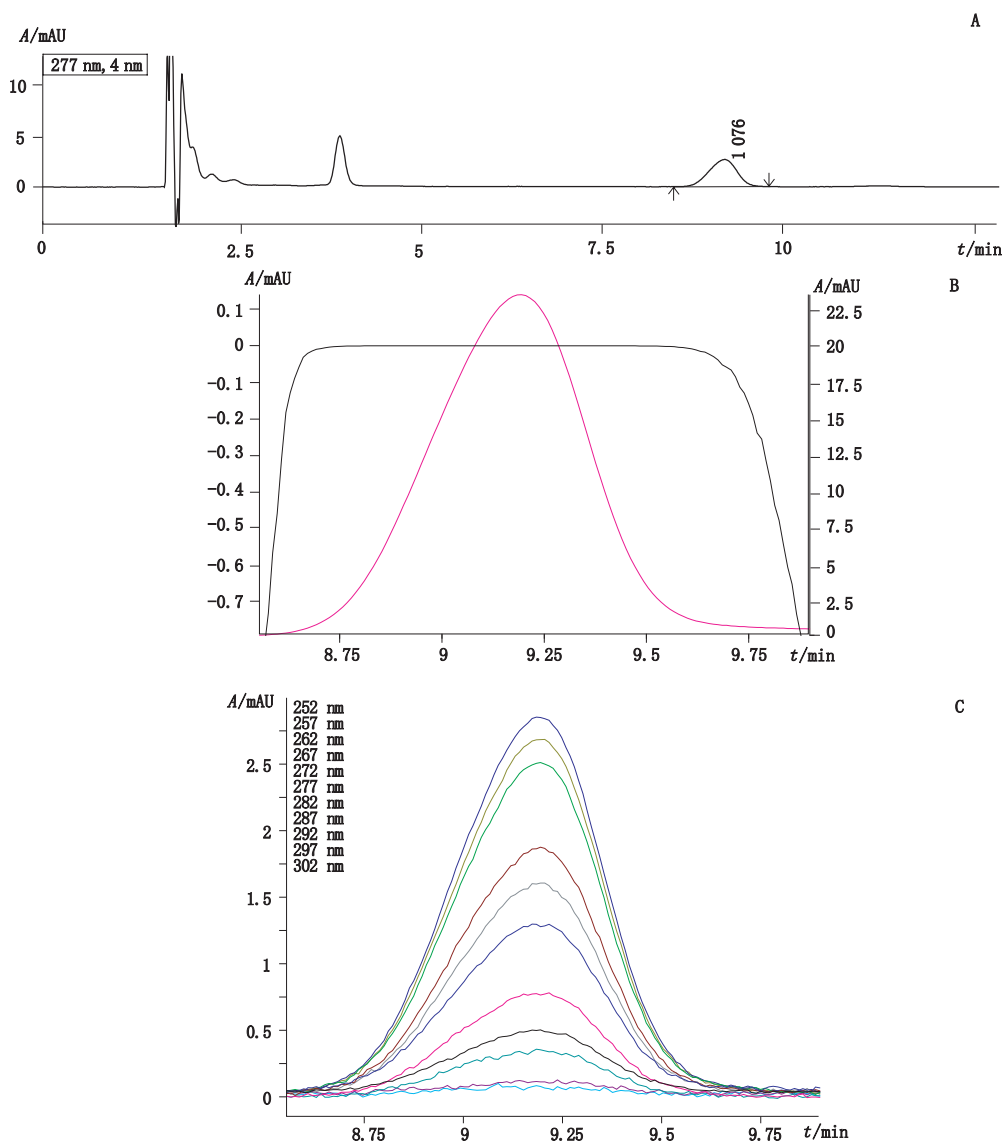
2.9 最低检测限 精密量取对照品溶液 20 μL 进样, 信噪比为 3.0, 计算检测限为 0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限为 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.10 样品含量的计算 取各批号注射用米卡芬净钠样品, 按“2.2”项下配制供试品溶液, 进样测定, 结果见表 1。

表 1 注射用米卡芬净钠中抗氧化剂 1076 含量 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Tab. 1 antioxidant 1076 in micafungin sodium injection

批号 (batch number)	含量 (content)
140401	未检出 (not be detected)
140402	未检出 (not be detected)
140403	未检出 (not be detected)

取各批号注射用米卡芬净钠, 于 40 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 75% 贮存 6 月, 按“2.2”项下配制供试品溶液, 进样测定, 结果见表 2。



A. 色谱图 (chromatogram) B. 峰纯度 (purity figure) C. 峰轮廓 (peak profile)

图 6 胶塞中 1076 色谱图

Fig. 6 The spectrogram of antioxidant 1076 in rubber stopper

表 2 40 °C、相对湿度 75% 贮存 6 月的注射用米卡芬净钠
中抗氧化剂 1076 含量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Tab. 2 antioxidant 1076 in micafungin sodium
injection stored for six months
under 40 °C、75%

批号 (batch number)	含量 (content)
140401	未检出 (not be detected)
140402	未检出 (not be detected)
140403	未检出 (not be detected)

3 讨论

3.1 溶剂选择 在前期胶塞的提取试验中曾经尝试

用甲苯作为溶剂进行提取,从溶剂对人员和环境的安全性考虑,拟选用低毒性的溶剂来代替,从抗氧化剂 1076 的溶解性试验结果进行筛选,选用二氯甲烷和无水乙醇为溶剂,抗氧化剂 1076 在二氯甲烷中易溶,故胶塞选用二氯甲烷和无水乙醇 (体积比为 2:3) 来提取。

3.2 固相萃取小柱的选择 由于抗氧化剂不溶于水,采用亲水亲脂的 HLB 固相萃取小柱。选用美国月旭公司生产的 chromclean HLB 200 mg/6 mL, 30 PK, 效果较好。临用时用甲醇 5 mL, 水 5 mL 活化小柱。

3.3 样品的处理 由于抗氧化剂在胶塞中的含量很小,迁移进入药液中的量就更小,考虑首先测得胶塞中抗氧化剂 1076 的含量,再测定迁移进入药液中的量。

迁移采用固相萃取小柱 HLB 型将抗氧化剂富集在小柱上用适宜的溶剂将其洗脱再测定的方法。将注射用米卡芬净钠过小柱,用二氯甲烷:无水乙醇(2:3)5 mL 洗脱,结果在 2 min 左右出现很大的干扰峰,并且该峰有很长的拖尾,抗氧化剂 1076 的峰出现在该峰拖尾处,说明米卡芬净钠主药有干扰。需要洗脱米卡芬净钠而不损失抗氧化剂,采用水洗的方法,加入 3 mL 超纯水进行洗涤,米卡芬净钠主药中干扰峰的拖尾得以改善。同时,在选择流动相时,考虑到米卡芬净钠主药中拖尾峰的影响,在流动相中加入一定比例的水,使目标峰后移,从而排除干扰。

3.4 实验结果 结果显示,各批号注射用米卡芬净钠及在温度 40 °C,相对湿度 75% 的环境中经过 6 个月高温高相对湿度加速试验的样品中均未检测出抗氧化剂 1076。该批胶塞与该药物相容性良好。

参考文献

- [1] 张宇. 药用丁基胶塞与药物相容性研究现状和展望[J]. 天津药学, 2010, 22(1): 72
ZHANG Y. Current situation and prospect of research on the compatibility of medicinal butyl rubber stopper[J]. Tianjin Pharm, 2010, 22(1): 72
- [2] 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
ZHU 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
- [3] 谢兰桂, 汤龙, 孙会敏. 再生塑料及其检测技术研究进展[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1985
XIE LG, TANG L, SUN HM. Review on recycled plastic and its detection technologies[J]. Chin J Pharm Anal, 2010, 30(10): 1985
- [4] 郭志鑫, 姜典财, 黄志禄, 等. 药用卤化丁基胶塞质量状况分析[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(2): 399
GUO ZX, JIANG DC, HUANG ZL, *et al.* Surveillance and quality analysis of pharmaceutical halogenated butyl rubber stopper[J]. Chin J Pharm Anal, 2011, 31(2): 399
- [5] 浦雨伟, 崔萍, 吴娟, 等. 药用丁基胶塞中抗氧化剂 264、1010、5057 迁移研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(12): 2231
PU YW, CUI P, WU J, *et al.* Migration studies on the common antioxidants in rubber plug[J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(12): 2231
- [6] 王峰, 李樾, 孙会敏. 聚丙烯输液瓶中添加剂的迁移研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3): 414
WANG F, LI Y, SUN HM. Migration studies on the additives of polypropylene infusion bottle[J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(3): 414
- [7] 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
- [8] 刘一鸣. 医用橡胶材料研究进展[J]. 化工中间体, 2010, (10): 5
LIU YM. Research progress of medical rubber materials[J]. Chem Intermed, 2010, (10): 5
- [9] 张芳艳, 赵欣欣, 余萍. 药品包装材料存在的问题及其对用药安全的影响[J]. 中国药业, 2012, 21(16): 10
ZHANG FY, ZHAO XX, YU P. The problems of drug packaging materials and their effects on the safety of drug use[J]. China Pharm, 2012, 21(16): 10
- [10] 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
- [11] 国家食品药品监督管理局直接接触药物的包装材料和容器标准汇编
Standard Collection of Packaging Materials and Containers for Direct Contact Medicines Promulgated by State Food and Drug Administration
- [12] 国家食品药品监督管理局. 化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则[EB/OL]. (2011-12-29) [2015-12-9]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=124>
CFDA. Guidelines of Evaluating Compatibility between Pharmaceutical Plastic Packaging and Pharmaceutical Injections [EB/OL]. (2011-12-29) [2015-12-9]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=124>
- [13] 许宗颖, 刘兴兰, 蒲小聪. HPLC 法测定五层共挤输液用袋中抗氧化剂 1178 的含量[J]. 中国药师, 2015, 18(5): 876
XU ZY, LIU XL, PU XC. Determination of antioxidant 1178 in 5-layer Co-extrusion bags used for infusion by HPLC[J]. China Pharm, 2015, 18(5): 876
- [14] 王正林, 刘志刚, 胡长鹰, 等. 聚烯烃抗氧化剂 1076 和 168 在食用油中的迁移研究[J]. 包装工程, 2007, 28(6): 1
WANG ZL, LIU ZG, HU CY, *et al.* Migration of polyolefin antioxidants irganox 1076 and irganox 168 in edible oils[J]. Packag Eng, 2007, 28(6): 1
- [15] 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
- [16] 王峰, 李樾, 孙会敏. 聚丙烯输液瓶中添加剂的迁移研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3): 414
WANG F, LI Y, SUN HM. Migration studies on the additives of polypropylene infusion bottle[J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(3): 414

(本文于 2016 年 8 月 1 日收到)