

张敏利. Online-SPE 法测定注射液中塑料包装可能迁移的四种抗氧化剂[J]. 环境化学, 2020, 39(5): 1445-1447.

ZHANG Minli. Online-SPE method determination of 4 possible migration antioxidants in plastic packaging for injections [J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(5): 1445-1447.

ThermoFisher
SCIENTIFIC 赛默飞世尔科技

Online-SPE 法测定注射液中塑料包装 可能迁移的四种抗氧化剂

张敏利

(浙江华海药业股份有限公司, 台州, 317024)

摘要 本文为定量分析注射液中塑料包装可能迁移的4种抗氧化剂(168、330、1010和1076),建立了Turbo Flow固相萃取柱结合Hyperisil Gold分析柱的Online-SPE方法.借助DAD检测器和大体积自动进样器旁路时间调整,实现了对2000 μL 样品的直接分析,并对2种塑料包装注射液样品进行了分析.结果表明,4种抗氧化剂的分辨率好、灵敏度高(LOD, 0.7—2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、线性良好($R > 0.999$)、重现性好(RSD, 5%—7%)、平均回收率104.5%—113.5%,适合大批量样品的分析测定.

关键词 抗氧化剂, Online-SPE方法, 质量控制.

Online-SPE method determination of 4 possible migration antioxidants in plastic packaging for injections

ZHANG Minli

(Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co., Ltd., Taizhou, 317024, China)

Abstract: In order to quantitatively analyze the possible migration of four antioxidants in plastic packaging of injection: An online-SPE method of Turbo-flow solid phase extraction (SPE) column combined with hyperisil gold column was established. With adjustment of large volume injection auto-sampler bypass time, 2000 μL sample were directly analyzed, then two kinds of injection samples of plastic packaging were determined in this study. The results showing that the four antioxidants had good resolution, high sensitivity (LOD, 0.7—2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), good linearity ($R > 0.999$), and good reproducibility (RSD, 5%—7%). It is especially suitable for the analysis and determination of large quantities of samples.

Keywords: antioxidants, Online-SPE, quality control.

药包材即直接与药品接触的包装材料和容器.作为上市药品的一部分,药包材本身的质量、安全性、使用性能以及药包材与药物之间的相对稳定性对药品质量有着十分重要的影响.《中国药典2015版附录“9621药包材通用要求指导原则”》中明确提出,药物制剂在选择药包材时必须进行药包材与药物的相容性研究,其中包括药包材添加剂的迁移研究.药用注射液常用塑料输液包装通常为聚乙烯或聚丙烯材质.为确保包装材料在加工和储运过程中的稳定性,通常会加入一定含量的抗氧化剂,常见抗氧化剂如下:抗氧化剂168(三[2,4-二叔丁基苯基]亚磷酸酯, $\text{C}_{42}\text{H}_{63}\text{O}_3\text{P}$, CAS 31570-04-4),抗氧化剂330(1,3,5-三甲基-2,4,6-三(3,5-二叔丁基-4-羟苄)苯, $\text{C}_{54}\text{H}_{78}\text{O}_3$, CAS 1709-70-2),抗氧化剂1010(四(3,5-二叔丁基-4-羟基)苯丙酸季戊四醇酯, $\text{C}_{73}\text{H}_{108}\text{O}_{12}$, CAS 6683-19-8),抗氧化剂1076(β -(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸正十八碳醇酯, $\text{C}_{35}\text{H}_{62}\text{O}_3$, CAS 2082-79-3).

由于输液产品总体积通常在100 mL以上,其药包材中所含微量添加剂即使在储运过程中缓慢渗入药液^[1-2],其含量也会由于大量稀释给后续检测带来困难,为解决该问题,目前需要采用离线固相萃取(SPE)方式,对样品进行适当浓缩后检测^[3],但该方法存在操作繁琐费时、重现性不理想、人力与时间成本较高等问题.

本实验采用在线固相萃取(Online-SPE)方式,选择基于快速涡流色谱的 Turboflow Cyclone 固相萃取柱对目标样品进行在线富集纯化,不但可以简化样品前处理过程,省时省力;而且固相萃取柱使用寿命长,交叉污染率低;实验结果显示,方法线性关系良好、灵敏度高,准确度高,特别适合大批量样品的分析测定.

1 实验部分(Experimental section)

1.1 仪器与药品

仪器:Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱仪(包括 DGP-3600 双三元泵,WPS-3000SL 自动进样器,TCC-3000RS 柱温箱,DAD 3000 二极管阵列检测器,变色龙色谱数据系统 7.2 美国赛默飞世尔公司).

标准品:三[2,4-二叔丁基苯基]亚磷酸酯(抗氧化剂 168)、1,3,5-三甲基-2,4,6-三(3,5-二叔丁基-4-羟苯)苯(抗氧化剂 330)、四(3,5-二叔丁基-4-羟基)苯丙酸季戊四醇酯(抗氧化剂 1010)和 β -(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸正十八碳醇酯(抗氧化剂 1076)均由中国食品药品检定研究院提供;供试品:葡萄糖氯化钠注射液、奥硝唑氯化钠注射液由四川科伦药业有限公司提供.乙腈、丙酮(色谱级,Fisher 公司),去离子水(18.2 M Ω ·cm,Millipore 纯水机).其他试剂均为分析纯.

标准工作溶液:分别精密称取不同对照品抗氧化剂适量,以丙酮溶解,配制成 1.0 mg·mL⁻¹的混合溶液,作为浓度为 1000 μ g·L⁻¹的标准贮备液.精密量取标准贮备溶液适量,以丙酮稀释制成浓度为 3、2、1、0.5、0.2、0.1 μ g·L⁻¹的系列混合标准溶液.

样品溶液:取样品溶液直接进样 2000 μ L;标准品溶液:采用程序进样模式,通过进样针先后吸取超纯水 2000 μ L,混合标准溶液 40 μ L,一同注入色谱仪.加标溶液:采用程序进样模式,通过进样针先后吸取样品溶液 2000 μ L,混合标准溶液 40 μ L,一同注入色谱仪.

1.2 色谱条件

SPE 柱,Turbo-flow Cyclone (50 mm \times 1.0 mm);分析柱,Hypersil Gold (4.6 mm \times 150 mm,5 μ m);柱温:35 $^{\circ}$ C.进样量:2000 μ L;流动相:A 乙腈,B 水;左泵(SPE)泵梯度洗脱程序见表 1,右泵等度洗脱:乙腈 100%,流速 1.0 mL·min⁻¹.DAD 参数:277 nm,切换旁路时间:1.5 min.阀切换时刻:0 min,1—2;6.0 min,1—6;10.0 min,1—2.

表 1 左泵(SPE)泵梯度洗脱程序

Table 1 Pump gradient elution procedure of the left side pump (SPE)

时间 Time/min	A 乙腈 ACN / %	B 水 H ₂ O / %	流速 Velocity of flow/(mL·min ⁻¹)
0.0	5	95	2.0
1.6	5	95	2.0
2.0	75	25	1.0
6.0	75	25	1.0
6.5	5	95	1.0
10.0	5	95	1.0
19.0	5	95	1.0
19.5	5	95	2.0
20.0	5	95	2.0

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 Online-SPE 色谱柱的选择

由于本方法进样量较大,为防止注射液中可能含有的大分子助溶剂或蛋白成分降低 SPE 柱使用寿命,特选择 TurboFlow 柱作为富集柱.由于待测物极性较低,选择低含碳量 Hypersil Gold 柱作为分析柱,以 100%乙腈等度洗脱,效果较理想,各待测物均实现基线分离.

2.2 旁路时间的确定

注射液中活性药物成分(active pharmaceutical ingredient, API)浓度较高,且本方法进样体积达 2000 μ L,为降低 API 对抗氧化剂检测的干扰,待进样 1.5 min,样品全部进入富集柱后,富集泵流动相改为 75%乙腈,对可能同时富集的 API 成分进行冲洗(经测试,该比例的乙腈不会导致抗氧化剂提前洗脱),同时为降低大体积进样环带来的溶剂梯度延迟,进样 1.5 min 后将进样阀改为旁路状态.

2.3 进样方法选择

由于待测物在水和甲醇中溶解性较差,如果将对照贮备液直接以水稀释然后进行测定,待测物可能会在溶液中析出,因而无法在稀释液中均匀分散,导致方法的重现性和回收率均无法满足测定要求;若改用 30%丙酮进行稀释,虽然

在一定程度上能够解决上述分散不均匀的问题,但样品基质可能会在与丙酮混合过程中发生变化.实验最终采用程序进样方式,将待测物与稀释液或样品溶液在进样系统内混合,效果较为理想.

2.4 方法的线性和检出限

使用优化后的方法,按照“1.2”的溶液配制方法,得到标准品与供试品溶液及加标样品测定色谱图(加标量 $40 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),方法的线性考察实验采用程序进样方式.准确精密地吸取梯度浓度对照品溶液 $40 \mu\text{L}$,与 $2000 \mu\text{L}$ 纯水一同进样检测.得到折算后浓度为 $2.0, 4.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的峰面积,以溶液浓度为横坐标,响应峰面积为纵坐标,绘制线性回归标准曲线,其中,选择信噪比(S/N)为 3.0 时的浓度为各成分的检测限(LOD), S/N 为 10.0 时的浓度为各成分的定量限(LOQ).若最低浓度测得信噪比高于 3.0 时,则根据信噪比倍数推算最低检出限,统计结果见表 2.结果表明,抗氧化剂 1010、抗氧化剂 330 在 $2.0\text{—}60.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围,抗氧化剂 1076 和抗氧化剂 168 在 $4.0\text{—}60.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围,显示良好的线性关系,线性相关系数(R^2)均 >0.999 .

2.5 加标回收率、重现性与实际样品测定结果

选用了葡萄糖氯化钠注射液和奥硝唑氯化钠注射液 2 种塑料包装注射液样品,分别标号样品 1、2,按照上述“1.2”方法进行测定.结果显示,样品 1 含抗氧化剂 1010 约 $0.71 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,其他抗氧化剂均未检出;样品 2 中 4 种抗氧化剂均为检出.取样品 2 共 5 份,分别进行加标回收率测试考察,结果见表 2.由表 2 可知,5 份样品的加标回收率均在 $100\%\text{—}115\%$ 范围内, RSD 值均在 8% 以下,说明样品在处理和测试过程中受损较少,在合理范围内.因此表明本方法可行,且重复性较好,具有较高的准确度.

表 2 方法线性、检出限、加标回收率、重现性结果

Table 2 Linear investigation results

化合物 Compound	定量限 LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	检出限 LOD/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	线性相关系数 (R^2)	加标平均值 Average value/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}, n=5$)	RSD (%, $n=5$)	加标回收率 Average recovery (%, $n=5$)
抗氧化剂 1010	2.0	0.7	0.9997	43.2	7.4	108.0
抗氧化剂 330	2.0	0.7	0.9997	45.4	6.7	113.5
抗氧化剂 1076	4.0	2.0	0.9990	43.5	5.7	108.8
抗氧化剂 168	4.0	2.0	0.9990	41.8	5.9	104.5

* 加标量 $40.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

3 结论 (Conclusion)

本文为控制药包材本身的质量、提升安全性,采用 TurboFlow 柱,结合 Hyperisil Gold 分析柱初步建立了 Online-SPE 方法,用于塑料包装注射液中可能发生迁移的四种抗氧化剂的快速测定方法.大幅简化样品前处理过程,降低人工操作导致样品交叉污染的可能性,解决大体积($2000 \mu\text{L}$)进样的溶剂效应,提高了方法的重现性.本文方法线性关系良好、灵敏度高(LOD: $0.7\text{—}2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),准确度好,特别适合大批量样品的分析测定,为注射液生产企业药包材迁移实验的方法开发奠定了一定基础.

参考文献 (References)

- [1] 刘兴兰, 王晓兰, 杨婧. 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[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(11): 2101-2105.
LIU X L, WANG X L, YANG J. Determining migration of antioxidant 1076 in the packing rubber plug of cefotaxime sodium for injection by LC-MS/MS[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2017, 37(11): 2101-2105 (in Chinese).
- [2] CUI P, WU J. Migration studies on the common antioxidants in rubber plug[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016, 36(12): 2231-2240.
- [3] 蒲小聪, 陈蕊, 游延军. 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[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(7): 1298-1303.
PU X C, CHEN R, YOU Y J. HPLC determination for migration of antioxidant 1076 from rubber stopper to micafungin sodium injection [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2017, 37(7): 1298-1303 (in Chinese).