doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2021.23.017

高效液相色谱法同时测定输液器中7种抗氧剂的迁移量*

韩海燕[1],蒲道俊[2],吴红洋[1],余春梅[2],范能全[1△]

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院,重庆 401121; 2. 西南药业股份有限公司,重庆 400038)

摘要:目的 建立同时测定输液器中7种抗氧剂[抗氧剂1310,1010,330,1076,168及2,4－二叔丁基苯酚(2,4－DTBP)、抗氧剂2,6－二叔丁基对甲酚(BHT)]在盐酸莫西沙星氯化钠注射液中迁移量的高效液相色谱(HPLC)法。**方法** 色谱柱为Agilent 5 TC－C_{18}(2)柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇－0.1%乙酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为228 nm,柱温为35 ℃,进样量为20 μL。**结果** 抗氧剂1310,1010,330,1076,168,BHT,2,4－DTBP的质量浓度均在0.5～20.0 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好(R^2≥0.999 0);检测限分别为0.10,0.10,0.10,0.20,0.10,0.10,0.10 μg/mL;精密度、稳定性、重复性试验的*RSD*均低于15%(n=6);平均回收率分别为97.25%,97.70%,97.41%,98.49%,95.89%,96.00%,104.39%,*RSD*分别为4.81%,3.94%,3.44%,5.13%,7.96%,12.25%,11.91%(n=9);抗氧剂2,4－DTBP和BHT在0,60,90,120 min时的迁移量均不超过0.04 μg/mL,抗氧剂1310,330,1010,1076,168均未检测到。**结论** 该方法操作简便,灵敏度高,适用性好,稳定性和重复性均较好,可用于测定输液器中抗氧剂在盐酸莫西沙星氯化钠注射液中的迁移量。

关键词:高效液相色谱法;输液器;盐酸莫西沙星氯化钠注射液;抗氧剂;迁移量

中图分类号:R917;R927.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1006－4931(2021)23－0058－04

Simultaneous Determination of Migration of Seven Antioxidants from Infusion Set by HPLC

HAN Haiyan[1], *PU Daojun*[2], *WU Hongyang*[1], *YU Chunmei*[2], *FAN Nengquan*[1]

(*1. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 401121; 2. Southwest Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing, China 400038*)

Abstract: Objective To establish a high－performance liquid chromatography (HPLC) for the simultaneous determination of the migration of seven antioxidants [antioxidants 1310, 1010, 330, 1076, 168, 2,4－di－tert－butyl phenol (2,4－DTBP), and antioxidant 2,6－di－tert－butyl－4－methylphenol(BHT)] from infusion set to Moxifloxacin Hydrochloride Sodium Chloride Injection. **Methods** The chromatographic column was Agilent 5 TC－C_{18}(2) column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol－0.1% acetic acid solution(gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 228 nm, the column temperature was

*基金项目:重庆市科研机构绩效激励引导专项项目[cstc2019jxjl130040]。

第一作者:韩海燕,女,硕士,工程师,研究方向为药包材相容性,(电子信箱)cqhanhaiyan@163.com。

△通信作者:范能全,男,硕士,正高级工程师,研究方向为药包材的安全性,(电话)023－86067359(电子信箱)fannengquan@cqifdc.org.cn。

参考文献

[1] 葛宝坤,赵孔祥. 我国进出口中药材中的生物毒素及其污染分析[J]. 口岸卫生控制,2012,17(1):52－58.

[2] 计 成. 霉菌毒素对家禽的危害及降解技术[J]. 中国家禽,2014,36(2):40－42.

[3] 裘维藩,余永年,卯晓岚. 菌物学大全[M]. 北京:科学出版社,1998:723－735.

[4] 马海华,孙楫舟,甄 彤,等. 我国国家标准和行业标准中黄曲霉毒素测定方法综述[J]. 食品工业科技,2016,37(6):360－366.

[5] 熊 欣,刘 青,张广文,等. QuEChERS/LC－MS/MS法测定食品中7种真菌毒素[J]. 分析测试学报,2018,37(9):1008－1013.

[6] 陈建民,张雪辉,杨美华,等. 黄曲霉毒素检测方法研究进展[J]. 中国中药杂志,2005,30(24):1890－1894.

[7] 邵 丽,王 晓,滕振勇. HPLC－柱后光化学衍生法检测花生酱中黄曲霉毒素[J]. 食品研究与开发,2015,36(23):135－137.

[8] 张 伟,邹耀华,诸葛陇. HPLC法测定土鳖虫中黄曲霉素的含量[J]. 中国药房,2015,26(30):4269－4271.

[9] 刘亚蓉,逯雯洁,刘海青,等. 免疫亲和柱净化－柱后光化学衍生－高效液相色谱荧光法测定保和系列制剂中黄曲霉毒素[J]. 中成药,2012,34(4):678－681.

[10] 康翠欣,汪芳芳,周 原,等. 芝麻酱中黄曲霉毒素B_1、B_2、G_1、G_2的测定:免疫亲和柱净化光化学柱后衍生－高效液相色谱法[J]. 现代商贸工业,2015,36(24):229－230.

[11] 范岩钟. 免疫亲和柱净化－光化学衍生液相色谱法测定植物油中黄曲霉毒素B_1的含量[J]. 海峡预防医学杂志,2015,21(5):51－53.

[12] 方 芳,张 旭,郑睿行. 免疫亲和柱净化－光化学柱后衍生高效液相色谱荧光法测定粮食中黄曲霉毒素[J]. 粮食与饲料工业,2012,12(6):60－62.

[13] 刘丽娜,李耀磊,金红宇,等. 免疫亲和净化HPLC柱后光化学衍生荧光法测定动物药中黄曲霉毒素[J]. 中草药,2017,48(6):1220－1224.

[14] 李红梅,朱聿元,韩 华,等. 高效液相色谱－柱后光化学衍生法测定大米粉中黄曲霉B_1含量[J]. 安徽农学通报,2017,23(15):135－137.

[15] 杨 琳,张宇昊,马 良. 高效液相色谱法同时检测粮谷中的黄曲霉毒素和赭曲霉毒素[J]. 食品科学,2010,31(24):250－254.

[16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:11－394.

(收稿日期:2021－06－16)

35 ℃, and the injection volume was 20 μL. **Results** The antioxidants 1310, 1010, 330, 1076, 168, BHT, 2, 4 – DTBP showed good linear relationship in range of 0.5 – 20.0 μg/mL ($R^2 \geqslant 0.999\ 0$), and their limits of detection were 0.10, 0.10, 0.10, 0.20, 0.10, 0.10 and 0.10 μg/mL, respectively. The *RSD*s of precision, stability and repeatability tests were less than 15% ($n = 6$). The average recoveries of antioxidants 1310, 1010, 330, 1076, 168, BHT, 2, 4 – DTBP were 97.25%, 97.70%, 97.41%, 98.49%, 95.89%, 96.00% and 104.39% with *RSD*s of 4.81%, 3.94%, 3.44%, 5.13%, 7.96%, 12.25% and 11.91% ($n = 9$), respectively. The migration of antioxidants 2, 4 – DTBP and BHT at 0, 60, 90 and 120 min was not more than 0.04 μg/mL, antioxidants 1310, 330 1010, 1076 and 168 were not detected. **Conclusion** The method has the advantages of simple operation, high sensitivity, good applicability, stability and repeatability, which can be used for the determination of the migration of antioxidants from infusion set to Moxifloxacin Hydrochloride Sodium Chloride Injection.

Key words: HPLC; infusion set; Moxifloxacin Hydrochloride Sodium Chloride Injection; antioxidants; migration

一次性使用输液器与药液直接注入人体，在给患者治疗的同时也存在风险，输液器材质中的有害物质可能迁移到药液中，对人体产生不良反应[1-4]。输液器合成加工过程中需加入抗氧剂，以抑制或延缓氧化过程[5-7]，这些抗氧剂超出一定限量将对人体肝、脾、肺等器官造成伤害[8]。部分抗氧剂易发生降解，产物仍有较大毒性[9]。近年来，报道抗氧剂与药品包装材料相容性的研究很多[10-18]，但与输液器的相容性研究极少。本研究中以盐酸莫西沙星氯化钠注射液模拟临床输注，采用高效液相色谱法（HPLC）法测定输液器聚氯乙烯（PVC）和热塑性弹性体（TPE）中 7 种抗氧剂的迁移量。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 Ⅱ型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；KQ – 500DE 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司，功率为 500 W，频率为 40 kHz）；VG3 S25 型旋涡混匀器（德国 IKA 公司）；一次性输液器[A 公司，PVC（批号为 20190304），TPE（批号为 20190620）]。

1.2 试药

抗氧剂 1310 对照品（批号为 1 – TTK – 115 – 1，含量为 97%），抗氧剂 1010 对照品（批号为 5 – LXM – 44 – 1，含量为 98%），抗氧剂 1076 对照品（批号为 5 – LXM – 45 – 1，含量为 97%），均购自 Toronto Research Chemicals；抗氧剂 2，4 – 二叔丁基苯酚（2，4 – DTBP）对照品（批号为 G880823，含量为 99.5%），抗氧剂 2，6 – 二叔丁基对甲酚（BHT）对照品（批号为 G133110，含量为 99.52%），抗氧剂 168 对照品（批号为 172881，含量为 98.5%），均购自 Dr. Ehrenstorfer；抗氧剂 330 对照品（European Directorate for the Quality of Medicines，批号为 P2155010，含量为 100%）；乙醇（色谱纯，Fisher Chemical，批号为 170063）；甲醇（色谱纯，河北百灵威超精细材料有限公司，批号为 LCC0S96）；冰醋酸（分析纯，重庆川东化工 < 集团 > 有限公司，批号为 20200601）；盐酸莫西沙星氯化钠注射液（B 公司，规格为每支 0.4 g∶250 mL，批号分别为 1811081，1811101，1811121）。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱：Agilent 5 TC – C_{18}（2）柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相：0.1% 乙酸（A）– 甲醇（B）溶液，梯度洗脱（程序见表 1）；流速：1.0 mL/min；检测器：二极管阵列检测器（DAD）；检测波长：228 nm；柱温：35 ℃；进样量：20 μL。空白溶剂（乙醇）、对照品溶液、供试品溶液、供试品加标溶液在此色谱条件下的色谱图见图 1。结果空白溶剂色谱图中未出现对照品溶液色谱图中目标物质的峰，供试品加标溶液色谱图中目标物质的峰与其他峰无干扰。

表 1 流动相梯度洗脱程序（%）

Tab. 1 The elution program of the mobile phase（%）

时间	流动相 A	时间	流动相 A
0 ~ 10 min	60 → 20	29 ~ 44 min	0
10 ~ 28 min	20 → 5	44 ~ 45 min	0 → 60
28 ~ 29 min	5 → 0	45 ~ 50 min	60

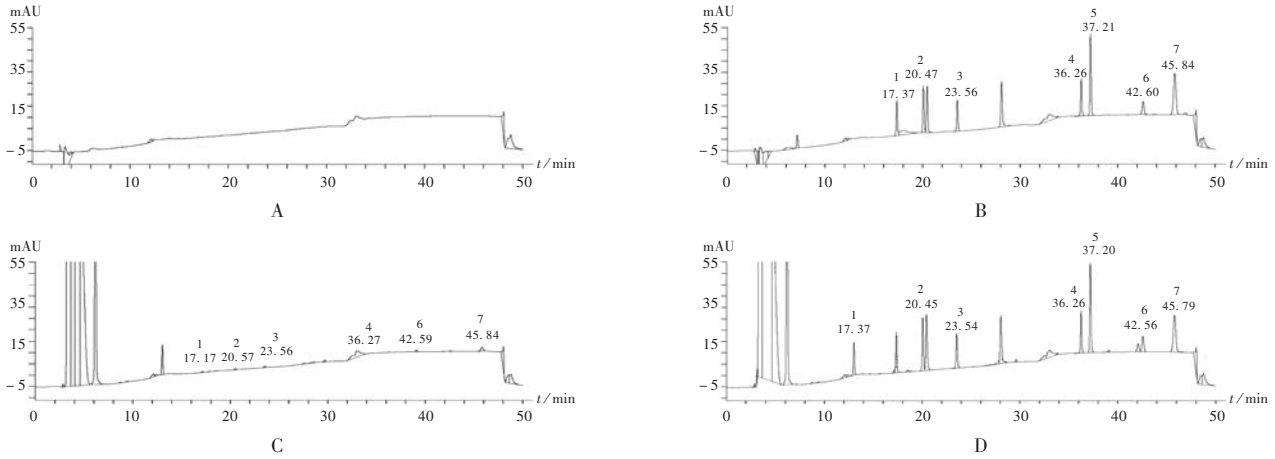
2.2 溶液制备

取样品，模拟输液过程，量取通过输液器的样品 5 mL，置分液漏斗中，加二氯甲烷 5 mL 萃取，收集二氯甲烷层，再加二氯甲烷 5 mL 重复萃取 1 次，合并 2 次萃取的二氯甲烷层，用氮气吹至干，用乙醇定容至 1 mL，涡旋振荡 1 min，0.45 μm 滤膜滤过，上机测试。

2.3 方法学考察

线性关系考察与检测限确定：取抗氧剂 1310，1010，1076，330，168，BHT，2，4 – DTBP 对照品各 50 mg，精密称定，置同一 100 mL 容量瓶中，加乙醇超声溶解并定容，摇匀，作为对照品贮备液；逐级稀释得各目标物质质量浓度分别为 0.5，1.0，2.0，5.0，10.0，15.0，20.0 μg/mL 的标准工作溶液；按 2.1 项下色谱条件进样测定，以峰面积（Y）为纵坐标、标准工作溶液质量浓度（X，μg/mL）为横坐标进行线性回归。线性回归方程见表 2。将标准工作溶液用乙醇逐级稀释，并进样测定，以信噪比（S/N）为 3 时的质量浓度为各目标物质的检测限。结果见表 2。

精密度试验：精密吸取上述对照品贮备液适量，按



1. 抗氧剂1310 2. 抗氧剂2,4-DTBP 3. 抗氧剂BHT 4. 抗氧剂1010 5. 抗氧剂330 6. 抗氧剂1076 7. 抗氧剂168
A. 空白溶剂 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液 D. 供试品加标溶液

图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. antioxidant 1310 2. antioxidant 2,4-DTBP 3. antioxidant BHT 4. antioxidant 1010 5. antioxidant 330 6. antioxidant 1076 7. antioxidant 168
A. Blank solvent B. Reference solution C. Test solution D. Test spiked sample solution

Fig. 1 HPLC chromatograms of the system suitability test

表2 方法学考察结果

Tab. 2 Results of the methodological investigation

抗氧剂名称	线性回归方程	R^2	检测限(μg/mL)	RSD(%,n=6)		重复性试验(n=6)		加样回收试验(%,n=9)	
				精密度试验	稳定性试验	$\overline{X}$(mg/L)	RSD(%)	$\overline{X}$	RSD
1310	$Y=29.451X-7.1684$	0.9993	0.10	0.76	1.37	148.43	2.03	97.25	4.81
2,4-DTBP	$Y=42.079X-11.3770$	0.9995	0.10	0.56	1.75	207.17	6.83	104.39	11.91
BHT	$Y=29.408X-6.3985$	0.9996	0.10	1.49	1.31	142.16	1.50	96.00	12.25
1010	$Y=29.158X-6.8060$	0.9993	0.10	1.78	1.55	165.47	1.55	97.70	3.94
330	$Y=70.927X-16.3080$	0.9995	0.10	0.32	0.90	311.68	0.63	97.41	3.44
1076	$Y=17.889X-4.8242$	0.9990	0.20	0.30	1.95	105.97	3.53	98.49	5.13
168	$Y=75.009X-17.8940$	0.9996	0.10	0.73	1.56	323.65	1.57	95.89	7.96

2.1项下色谱条件进样测定6次,记录色谱图。结果见表2,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密吸取上述对照品溶液适量,分别放置0,2,6,12,24,48 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果见表2,表明对照品溶液放置48 h稳定。

重复性试验:按2.2项下方法制备供试品溶液,加入质量浓度为200 μg/mL的标准工作溶液50 μL,按2.1项下色谱条件平行测定6次。结果见表2,表明方法重复性良好。

加样回收试验:按2.2项下方法制备供试品溶液,分别加入质量浓度为200 μg/mL的标准工作溶液10,50,100 μL,得质量浓度分别为2,5,10 μg/mL的溶液3份,并进样测定,计算回收率。结果见表2。

耐用性试验:微调色谱条件中流动相的流速和柱温,结果改变参数后,抗氧剂1310,330,1010,1076,168,BHT,2,4-DTBP均能良好分离,表明方法耐用性良好。

2.4 材料与迁移试验

按风险从严控制的研究思路,选择较剧烈的条件作为考察条件,设计迁移试验。将盐酸莫西沙星氯化钠注射液于40 ℃条件下放置0,60,90,120 min,模拟临床使用的滴注方法,一般药物静脉滴注的速率为30~60滴/分,1 mL液体滴数一般为15滴,输液时间(分)=[液体总量(mL)×15滴]÷每分钟滴数[19],计算得本规格品种的静脉滴注时间为62.5~125.0 min。本试验控制滴注速率为40滴/分,制得样品溶液。按2.2项下方法配制供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。结果3批(批号分别为1811081,1811101,1811121)样品在不同材质(PVC和TPE)输液器中,抗氧剂2,4-DTBP和BHT在0,60,90,120 min时的迁移量均未超过0.04 μg/mL,抗氧剂1310,330,1010,1076,168均未检测到。7种抗氧剂分析阈值与定量限见表3。

3 讨论

3.1 溶剂选择

抗氧剂1310,BHT,2,4-DTBP易溶于极性溶剂(甲醇、乙醇)中,抗氧剂1010,330,1076,168易溶于中

表 3 7 种抗氧剂分析阈值与方法定量限检测结果

Tab. 3 Analytical threshold and limit of quantitation of seven antioxidants

抗氧剂名称	日暴露量(μg/d)	关注阈值(μg/mL)	定量限(μg/mL)
2,4-DTBP	20	0.08	0.04
1310	100	0.40	0.04
BHT	250	1.00	0.04
330	1 250	5.00	0.04
1010	1 000	4.00	0.04
1076	850	3.40	0.10
168	800	3.18	0.04

等极性或非极性溶剂中。综合考虑,本研究中 7 种物质流动相的极性,通过试验进一步确定 7 种物质在乙醇中均有一定溶解度,且无目标物质的干扰峰,故最终选择乙醇为溶剂。

3.2 流动相选择及梯度洗脱程序优化

曾以四氢呋喃-乙腈为流动相,出峰较快,效率高,但考虑到溶剂挥发对人体健康有影响,故选用甲醇水溶液为流动相,发现抗氧剂 1310 的峰形拖尾严重,其他目标物质的峰形良好;分析拖尾分子的结构,改变流动相 pH 值,将水改为 0.1% 乙酸溶液后,抗氧剂 1310 的峰形不再拖尾,其他目标物质峰形也未受影响。考虑到药品中辅料和主药峰的影响,将 0.1% 乙酸的比例提高,使目标峰后移,排除干扰。根据各抗氧剂的极性,进一步调节流动相梯度,获得最佳分离度。最终确定为 2.1 项下的流动相及梯度洗脱程序。

3.3 检测波长选择

比较 DAD 检测器的全波段吸收值,分别选择 276 nm 和 228 nm 作为检测波长。综合比较 7 种抗氧剂的检测限、定量限及干扰峰影响情况,选择灵敏度高、无干扰的检测波长 228 nm。

3.4 迁移测试结果及安全性评价

取盐酸莫西沙星氯化钠注射液适量,于 30 ℃条件下放置 0,60,90,120 min,并模拟临床使用的滴注方法,结果药品与输液器接触后发生了部分迁移,小于定量限安全阈值的有抗氧剂 2,4-DTBP 和 BHT,其他 5 种抗氧剂均未检出。不会给药品带来安全风险。

3.5 方法评价

该方法操作简便,结果准确,适用性较强,灵敏度高,稳定性和重复性均较好,可用于同时测定输液器抗氧剂在注射液中的迁移量,为进一步评价其安全性提供参考。

参考文献

[1] 黄元礼. 新型输液器的药物相容性评价[D]. 北京:北京协和医学院,2015.
[2] 张正辉,谢 云,定天明,等. 聚丙烯输液瓶中抗氧剂的提取迁移及含量测定[J]. 亚太传统医药,2016,12(9):37-40.
[3] 方 旻,黄梓为,党玺云,等. 一次性使用输液器的药物相容性研究思路探讨[J]. 中国医疗器械信息 2020,26(13):21-22.
[4] 刘颖玲,吴长伟,翟永利. 电感耦合等离子体质谱法测定一次性使用输液器的金属元素[J]. 分析测试技术与仪器,2020,26(3):209-213.
[5] 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):1366-1371.
[6] 李委潞,谢 博,苏鸿雁,等. 输液系统中抗氧剂迁移量测定的方法学研究[J]. 天津科技,2018,45(7):26-28.
[7] 蒲小聪,陈 蕊,游延军. HPLC 法测定胶塞中抗氧剂 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.
[8] JENKE D. Extractables Screening of Polypropylene Resins Used in Pharmaceutical Packaging for Safety Hazards[J]. PDA J Pharm Sci Technol,2017,71(5):346-367.
[9] 朱碧君,李婷婷,孙会敏,等. HPLC 法同时测定药用卤化丁基胶塞中 5 种抗氧剂和游离硫的含量[J]. 中国药房,2018,29(18):2475-2479.
[10] 刘小慧,张芳芳,王蓉佳. 柱前衍生化-反相高效液相色谱法测定多层共挤输液膜中抗氧剂三(壬苯基)亚磷酸盐的迁出量[J]. 药物分析杂志,2018,38(8):1427-1431.
[11] 赵 杰. GC-MS 法测定塑料中对特辛基苯酚残留量[J]. 塑料,2017,46(4):125-128.
[12] 浦雨伟,崔 萍,吴 娟,等. 药用丁基胶塞中抗氧剂 264、1010、5057 迁移研究[J]. 药物分析杂志,2016,36(12):2231-2240.
[13] 朱碧君,胡红刚,李婷婷,等. HPLC 法测定聚丙烯输液瓶中抗氧剂 1010、抗氧剂 1076、抗氧剂 168、抗氧剂 330 的含量[J]. 药物分析杂志,2012,32(3):416-418.
[14] 张 旭,傅 萍,谢 华. HPLC 法同时测定药用卤化丁基胶塞中 17 种抗氧剂向注射用伏立康唑中的迁移[J]. 药物分析杂志,2020,40(8):1481-1489.
[15] 李晓光,吕少凤,俞 蒙,等. HPLC 法同时测定五层共挤膜中 4 种抗氧剂的含量[J]. 中国食品添加剂,2015(1):171-175.
[16] 周亚菊,张芳芳. 三层共挤输液袋包装氯化钠注射液中抗氧剂 1310 的 HPLC 法测定[J]. 中国医药工业杂志,2016,47(5):618-620.
[17] 胡长鹰,黄有红. HDPE 膜中抗氧剂 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(2):244-247.
[18] 黄 萍,刘兴兰. SPE-HPLC 法测定三层共挤输液袋中抗氧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):2267-2269.
[19] 王 春. 静脉滴注速度与时间的快速计算方法[J]. 华北国防医学,2010,22(1):10.

(收稿日期:2021-01-11;修回日期:2021-05-21)