

# 注射用乙酰谷酰胺中游离S及8种抗氧化剂含量与迁移研究

崔静, 张文涛, 王丽\*

(淄博市食品药品检验研究院, 淄博 255086)

**摘要: 目的** 建立注射用乙酰谷酰胺中游离S及8种抗氧化剂的高效液相色谱方法, 通过提取试验、高温迁移试验, 考察注射用乙酰谷酰胺中游离S及抗氧化剂的含量, 以及在高温条件下含量的变化情况。**方法** 采用高效液相色谱(DAD检测器), 色谱柱为WelchAQ-C18, 4.6 mm×250 mm, 5 μm, 流动相A为水; 流动相B为甲醇; 流动相C为乙腈, 梯度洗脱。**结果** 游离S及8种抗氧化剂在2.00~24.75 μg/mL线性浓度范围内重复性良好, 相对标准偏差(RSD)为0.19%~1.83%, 回收率在93.44%~106.28%之间。游离S及8种抗氧化剂的检出限为0.050%~0.477%。

**结论** 本方法简单易操作, 准确性强, 灵敏度高, 可以为注射用乙酰谷酰胺选择包材组件提供科学依据。

**关键词:** 注射用乙酰谷酰胺; 游离S; 抗氧化剂; 迁移研究

## 0 引言

乙酰谷酰胺又名醋谷胺, 是谷氨酰胺乙酰基化的衍生物, 可以促进氨基酸转运、增强细胞DNA及谷胱甘肽的合成, 具有提高神经细胞活力、改善神经细胞代谢及功能的作用, 用途广泛, 效果确切<sup>[1-2]</sup>。能够透过血-脑脊液屏障, 在肾小管细胞内分解出氨而变成乙酰谷氨酸。氨经肾小管分泌排出, 乙酰谷氨酸被吸收, 参与体内代谢<sup>[3-4]</sup>。乙酰谷酰胺主要的摄入途径为输注给药<sup>[5]</sup>。注射用乙酰谷酰胺常用包装材料为低硼硅玻璃瓶及卤化丁基胶塞。由于药用卤化丁基胶塞与药品直接接触, 在长期运输和贮存中, 所含游离S及抗氧化剂会迁移至药物中, 影响药品质量, 危害人体健康<sup>[6]</sup>。目前, 对胶塞中抗氧化剂的研究较为广泛, 但对这些组分在生产、贮藏、运输、使用过程中向药品的迁移研究资料不够充分。本研究利用高效液相色谱(DAD检测器)对药品中游离硫及各抗氧化剂组分进行检测。该检测器可在190 nm到400 nm波长范围内对各组分进行全波长检测, 扫描结束后得到一张包含各组分信息的三维图谱。可以通过紫外图谱比对, 更精准地判断是否与对照品相一致, 弥补了仅靠保留时间一致来判断是否为目标物质的不足。本文建立HPLC方法测定注射用乙酰谷酰胺中游离S及抗氧化剂的含量, 为药品生产企业包装材料的选择、药品质量控制提供了参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

Agilent-1260 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); 电子天平(十万分之一, 瑞士梅特勒托利多公司); Integral3 超纯水仪(美国密理博公司)

### 1.2 试剂

BHT 对照品(批号 195055-201901, 纯度 100.0%)中国食品药品检定研究院; BHT-Q 对照品(批号 AL171028-05, 纯度 98.86%), Stanford Analytical Chemicals Inc.; BHT-CHO 对照品(批号 20M-ASD-27-4, 纯度 99.24%), PANPHY Chemicals Corporation; 2,4-DTB 对照品(批号 YT171105-19, 纯度 99.68%), Stanford Analytical Chemicals Inc.; 游离S 对照品(批号 106536, 纯度 99.0%), Dr.Ehrenstorfer GmbH; 抗氧化剂 1310 对照品(批号 AL200408-19, 纯度 99.83%), Stanford Analytical Chemicals Inc.; 抗氧化剂 330 对照品(批号 19507-201601, 纯度 99.6%)、抗氧化剂 1010 对照品(批号 195014-201601, 纯度 98.2%)、抗氧化剂 1076 对照品(批号 195009-201601, 纯度 99.5%)、抗氧化剂 3114 对照品(批号 195008-201601, 纯度 99.8%), 中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈、无水乙醇、二氯甲烷为色谱纯, 水为超纯水。A 企业注射用乙酰谷酰胺(规格 0.6 g, 批号 20230903); B 企业注射用乙酰谷酰胺(规格

第一作者: 崔静, 主管药师, 研究方向为药品质量分析。

\* 通信作者: 王丽, 副主任药师, 研究方向为药品质量分析。E-mail: zbwanglizb@163.com

0.1 g, 批号 202306041); C 企业注射用乙酰谷酰胺(规格 0.3 g, 批号 21230804); D 企业注射用乙酰谷酰胺(规格 0.25 g, 批号 2401003); E 企业注射用乙酰谷酰胺(规格 0.2 g, 批号 240425-1); F 企业注射用乙酰谷酰胺(规格 0.1 g, 批号 24030221); G 企业注射用乙酰谷酰胺(规格 0.1 g, 批号 23091521)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 色谱条件

色谱柱: Welch AQ-C18, SN: 60240303838, 规格: 4.6 mm×250 mm, 5 μm, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填料。流动相 A: 水; 流动相 B: 甲醇; 流动相 C: 乙腈, 按表 1 进行梯度洗脱。流速 1.0 mL/min; 柱温 25°C; 检测波长 220 nm; 进样量 20 μL。

表 1 线性梯度表

时间(min)	A(%)	B(%)	C(%)
0	20	23	57
10	20	23	57
20	5	95	0
25	0	100	0
45	0	100	0
56	33	67	0
60	20	23	57
70	20	23	57

#### 1.3.2 溶液制备

(1) 混合对照品溶液的制备: 精密称取 BHT-CHO、2,4-DTB、BHT-Q、BHT、S、抗氧化剂 3114、抗氧化剂 1010、抗氧化剂 330、抗氧化剂 1076 对照品各 10 mg, 置于同一 50 mL 量瓶中, 加入 5 mL 二氯甲烷溶解并用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得混合对照品贮备液。精密量取上述混合对照品贮备液 1 mL, 置于 20 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得混合对照品溶液。BHT-CHO、2,4-DTB、BHT-Q、BHT、S、抗氧化剂 3114、抗氧化剂 1010、抗氧化剂 330、抗氧化剂 1076 的浓度分别为 10.75、10.11、10.23、10.48、12.38、10.34、10.58、10.95、10.00 μg/mL。精密量取上述混合对照品贮备液 0.2、0.4、0.8、1.0、1.6、2 mL, 分别置于 20 mL 量瓶中, 加入无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 制成系列线性关系工作溶液。

(2) 供试品溶液的制备: 将各批待检样品转移至 10 mL 玻璃离心管中, 精密加入二氯甲烷: 无水乙醇(2:3) 3 mL, 超声处理 10 min, 涡旋 30 s 共 4 次, 以 8000 r/min 4°C 离心 10 min 后, 取上清液作为供试品溶液。

(3) 空白对照溶液的制备: 取二氯甲烷: 无水乙醇(2:3) 的混合溶液体为空白对照溶液。

#### 1.3.3 迁移试验

根据药品包装材料和药物相容性试验指南中的规定, 分别将 1.2 项下 7 个厂家注射用乙酰谷酰胺倒置于(60±2)°C、相对湿度(65±5)% 的密闭容器中, 按照 1.3.2(1)中所述方法制备溶液。按照 1.3.1 试验方法进行检测。考察高温条件下游离 S 及多种抗氧化剂在注射用乙酰谷酰胺中的迁移趋势。

## 2 结果与分析

### 2.1 专属性考察

通过对混合对照品溶液、供试品溶液、空白对照溶液进行考察, 可知游离 S 及 8 种抗氧化剂待测均可检出, 且样品中其他成分不会干扰其检测, 各组分离度均符合要求, 见图 1。

### 2.2 重复性考察

按混合对照品溶液配制方法, 制备重复性试验样品 6 份, 按 1.3.1 项色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算样品含量。结果 BHT-CHO、2,4-DTB、BHT-Q、BHT、S、抗氧化剂 3114、抗氧化剂 1010、抗氧化剂 330、抗氧化剂 1076 峰的 RSD 分别为 0.19%~1.83%(n=6), 表明本方法重复性良好。

### 2.3 精密度考察

取混合对照品溶液适量, 连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果, 在该色谱条件下, BHT-CHO、2,4-DTB、BHT-Q、BHT、S、抗氧化剂 3114、抗氧化剂 1010、抗氧化剂 1330、抗氧化剂 1076 峰面积的 RSD 分别为 0.18%、0.29%、0.96%、0.34%、0.35%、1.83%、1.44%、0.39%、0.71%(n=6), 表明仪器精密度良好。

### 2.4 线性关系考察

取 1.3.2(1)系列线性标准溶液进行分析, 进行线性回归计算, 得出回归方程。各组分在相应质量浓度范围内线性关系良好,  $r > 0.999$ , 结果见表 2。

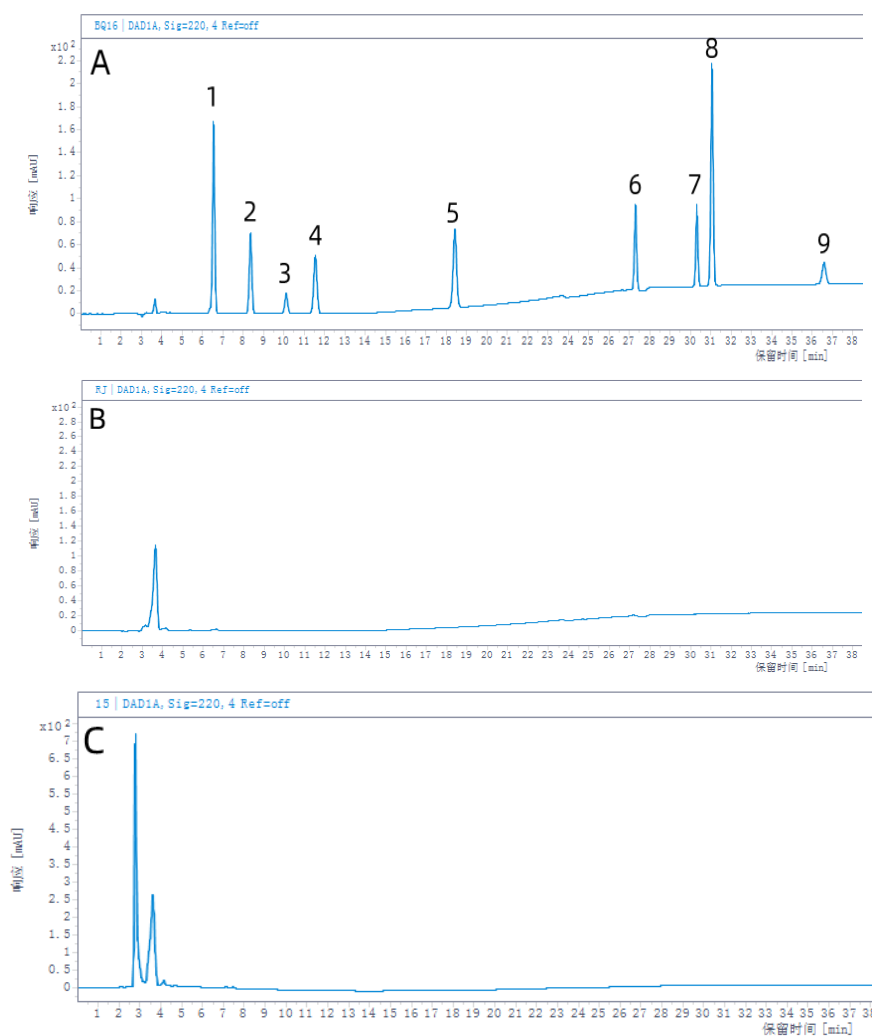
定量限与检测限的确定: 精密量取混合对照品溶液适量, 逐级稀释, 当信噪比分别为 S/N=10 和 S/N=3 时, 分别计算出定量限和检测限。

### 2.5 加样回收率考察

取已测定含量的样品(A 企业批号为 20230903)适量, 共 6 份, 按照 1.3.2(1)中所述方法, 加入一定量的混合对照品溶液, 进样测定, 记录峰面积并计算加样回收率。

### 2.6 稳定性考察

取混合对照品溶液, 分别于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 时进样测定, 记录峰面积。结果 BHT-CHO、2,4-DTB、BHT-Q、BHT、S、抗氧化剂 3114、抗氧化剂 1010、抗氧化剂 330、抗氧化剂 1076 峰面积的 RSD 在 0.23%~1.76% 之间, 表明溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。



注: A 混合对照品溶液: 1.BHT-CHO; 2.2, 4-DTB; 3.BHT-Q; 4.BHT; 5.S; 6. 抗氧化剂 3114; 7. 抗氧化剂 1010; 8. 抗氧化剂 330; 9. 抗氧化剂 1076; B 空白溶剂; C 供试品溶液

图 1 游离 S 及多种抗氧化剂测定典型色谱图

表 2 方法学验证结果

抗氧化剂	回归方程	$r$	线性范围( $\mu\text{g/mL}$ )	加样回收率(%)	检出限( $\mu\text{g/mL}$ )	定量限( $\mu\text{g/mL}$ )
BHT-CHO	$y=68588x-8624$	0.9997	2.15~21.49	106.28	0.050	0.150
2,4-DTB	$y=38595x-22240$	0.9946	2.02~20.22	102.91	0.155	0.166
BHT-Q	$y=12038x-170.38$	1	2.05~20.46	93.44	0.154	0.462
BHT	$y=33417x-2384$	1	2.10~20.96	104.70	0.519	0.477
S	$y=49225x-246.17$	0.9997	2.48~24.75	102.06	0.151	0.454
3114	$y=31623x+1485.5$	0.9997	2.07~20.68	104.09	0.051	0.154
1010	$y=25614x-884.03$	1	2.12~21.15	104.56	0.150	0.451
330	$y=78571x+104.32$	1	2.19~21.89	103.57	0.052	0.158
1076	$y=14766x-3894.9$	0.9995	2.00~20.00	101.99	0.052	0.155

### 3 讨论与结论

本研究利用建立的高效液相色谱方法, 对 7 个厂家的样品

以及 7 个厂家经过带包装  $60^{\circ}\text{C}$  倒置 10 天破坏试验的样品, 进行游离硫及 8 种抗氧化剂的检测。基于安全性数据库<sup>[7]</sup>, 对于静

脉给药途径的每日允许暴露量<sup>[8]</sup>, 其值是按照美国国家环境保护局、欧洲化学品管理局等报道的毒性数据来确定的, 已知乙酰谷酰胺每日最大用量 600 mg<sup>[9-10]</sup>。计算限度值, 见表 3。各厂家检验结果为供试品中均未检出游离硫及 8 种抗氧化剂组分。经 (60±2)℃、相对湿度 (65±5)% 高温处理的供试品中, 游离硫及 8 种抗氧化剂组分也均未检出。说明各厂家所用覆膜卤化丁基胶塞与乙酰谷酰胺相容性良好。药包材对保证药品质量具有重要意义, 是药品不可分割的组成部分<sup>[11]</sup>。各国药品监管部门也都对药包材质量提出了相应的要求, 制订了一系列法规和标

准<sup>[12]</sup>。需要注意的是, 药物包装材料引入的迁移物的种类及数量可能会随药物的储存、运输等条件发生动态变化, 必要时应对相关化合物进行风险评估, 或更换包装材料。

综上所述, 本研究所建立的高效液相色谱方法适用于同时测定注射用乙酰谷酰胺药品及其包装用卤化丁基胶塞中游离硫和 8 种常见抗氧化剂向药品中的迁移研究, 有效节省检验时间和成本, 该方法灵敏度高、准确性好, 重复性好, 操作简便, 为药企及检验检测机构对注射用乙酰谷酰胺药品与包材相容性研究提供了技术支持。

表 3 抗氧化剂 PED 及限度值

抗氧化剂	PDE(μg/d)	限度值(μg/mg)
BHT-CHO	500	0.83
2,4-DTB	240	0.4
BHT-Q	500	0.83
BHT	500	0.83
S	50000	83.33
3114	2500	4.17
1010	1500	2.5
330	5000	8.33
1076	768	1.28

## 参考文献

- [1] 张宝芳. 醒脑开窍汤联合乙酰谷酰胺治疗急性脑梗死临床疗效及对患者NIHSS评分和脑氧代谢的影响[J]. 四川中医, 2021, 39(07): 143-146.
- [2] 杨泽威, 廖侃华, 刘杰, 等. 乙酰谷酰胺联合依达拉奉治疗脑梗死疗效及作用机制的临床研究[J]. 中国社区医师, 2021, 37(02): 74-75.
- [3] 周奕彤, 王瑞珣, 刘然, 等. HPLC法测定注射用乙酰谷酰胺中乙酰谷酰胺含量和有关物质
- [4] 徐桂连, 邵纯君, 贺建华, 等. 《中华人民共和国药典》2015年版乙酰谷酰胺注射液含量测定系统适用性的修订建议[J]. 中国药品标准, 2016, 17(03): 169-172.
- [5] 梁伟醒. 脑静注射液联合注射用乙酰谷酰胺对重型颅脑损伤患者炎症反应的影响分析[J]. 中国现代药物, 2024, (18)17: 13-16.
- [6] 成婕, 张罗红, 江燕, 等. 药用胶塞常用抗氧化剂及可提取硫含量测定方法[J]. 包装工程, 2023, 44(03): 80-86.
- [7] 化学毒性数据库 [DB/OL]. <http://www.drugfuture.com/toxic/search.aspx> [2024-12-20].
- [8] 肖新月. 药品包装材料[M]. 科学出版社, 2023: 1-16.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020年版四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 374-381.
- [10] 赵锐, 王丽, 张娟, 等. 注射用阿莫西林钠克拉维酸钾卤化丁基胶塞 10 种抗氧化剂的提取和迁移研[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(04): 356-364.
- [11] 李莎, 韩海燕, 吴红洋, 等. 高效液相色谱法测定药品胶塞中硫磺和 7 种抗氧化剂含量及迁移[J]. 中国药业, 2022, 31(22): 71-74.
- [12] 国家食品药品监督管理局. 国家食品药品监督管理局关于印发《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(试行)》的通知[EB/OL]. [2012-09-07] <https://www.nmpa.gov.cn/wwwroot/gsyjz12267/fj.rar> [2024-12-20].