

## HPLC 法测定药用胶塞中常用抗氧化剂及可提取硫 向丙泊酚中/长链脂肪乳注射液中的迁移

成婕<sup>1</sup>, 江燕<sup>1</sup>, 邱怡婷<sup>1</sup>, 任锬<sup>1</sup>, 赵津池<sup>2</sup>, 田甜<sup>1</sup>, 张罗红<sup>1\*</sup>

(1. 四川省药品检验研究院, 成都 610097; 2. 成都康华生物制品股份有限公司, 成都 610199)

**摘要** 目的: 建立一种高效液相色谱方法(HPLC), 用于考察药用胶塞中常用抗氧化剂及可提取硫的提取情况, 以及药用胶塞中抗氧化剂及可提取硫向丙泊酚中/长链脂肪乳注射液的迁移情况。方法: 采用 Waters Symmetry RP<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为甲醇-乙腈-1% 醋酸水溶液, 梯度洗脱, 检测波长为 277 nm, 流速为 1 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温为 35 °C。结果: 各组分分离度良好; 在 0.1 ~ 20 μg · mL<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好,  $r \geq 0.9996$ ; 该方法的精密度、稳定性、重复性均良好, RSD 均 < 5.0%; 回收率为 93.3% ~ 108.7%, RSD 为 1.8% ~ 12.5%。检出 3 批药液中均有抗氧化剂 BHT 的迁移, 且含量高于其相应人每日允许最大暴露量(PDE)值, 有较大安全性风险。结论: 该方法具有较高的灵敏度, 操作简便, 能够用于检测丙泊酚中/长链脂肪乳注射液中抗氧化剂的迁移。

**关键词:** 高效液相色谱法; 丙泊酚中/长链脂肪乳注射液; 抗氧化剂; 可提取硫

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)02-0307-09

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024.02.14

## Determination of migration of common antioxidants and extractable sulfur in medical rubber stoppers to propofol medium/long chain fat emulsion injection by HPLC

CHENG Jie<sup>1</sup>, JIANG Yan<sup>1</sup>, QIU Yi-ting<sup>1</sup>, REN Kun<sup>1</sup>,  
ZHAO Jin-chi<sup>2</sup>, TIAN Tian<sup>1</sup>, ZHANG Luo-hong<sup>1\*</sup>

(1. Sichuan Institute for Drug Control, Chengdu 610097, China; 2. Chengdu Kanghua Biological Products Company Limited, Chengdu 610199, China)

**Abstract Objective:** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for investigating the extraction of common antioxidants and extractable sulfur in medical rubber stoppers and the migration of antioxidants and extractable sulfur to propofol medium/long chain fat emulsion injection. **Methods:** Waters Symmetry RP<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used as chromatographic column with methanol-acetonitrile-1% acetic acid solution as the mobile phase. Detection wavelength, velocity of flow and column temperature were set to 277 nm, 1 mL · min<sup>-1</sup> and 35 °C. **Results:** Good resolution and linear relationship ( $r \geq 0.9996$ ) in the range of 0.1 - 20 μg · mL<sup>-1</sup> were achieved. This method possesses superior precision, stability, repeatability, and all RSD were less than 5%. The rate of recovery was 93.3% - 108.7%, and the RSD was 1.8% - 12.5%. The

\* 通信作者 Tel:13808004672; E-mail: luohongzh@163.com

第一作者 Tel:15828617937; E-mail: cjphys@126.com

migration of antioxidant BHT was detected in three batches of solution and the content was higher than its corresponding permitted daily exposure (PDE) value, which means there is a large safety risk. **Conclusion:** The method represents high sensitivity and is easy to operate, which can effectively detect the migration of antioxidants in propofol medium/long chain fat emulsion injection.

**Keywords:** high-performance liquid chromatography (HPLC); propofol medium and long chain fat emulsion injection; antioxidants; extractable sulfur

丙泊酚中/长链脂肪乳注射液主要应用于手术期的麻醉诱导、麻醉维持以及成年患者诊断和手术操作的镇静,具有起效快、清除迅速、不良反应少等特点<sup>[1-2]</sup>。该注射液使用药用卤化丁基橡胶塞为密封件,这类胶塞因具有吸湿率低、耐化学性、气密性好、无生理毒副作用等优势而被药品生产企业广泛使用<sup>[3-5]</sup>。药用胶塞在生产过程中会添加抗氧化剂与硫化剂:抗氧化剂的加入能防止在加工和使用过程中橡胶老化,目前药用胶塞中常用抗氧化剂主要有BHT、1076、1010、330、3114、168,这些抗氧化剂在加工使用过程中可能会发生降解,其中BHT可能降解为BHT-OH、BHT-COOH、BHT-CHO、BHT-Q,1010、1076可能降解为1310,168可能降解为2,4-DBP;硫化剂的加入能增强胶塞的物理和化学性能,目前常用的硫化剂主要是可提取硫<sup>[6]</sup>。这些添加剂在与药品接触过程中,可能会迁移至药品中,影响药品质量,危害人体健康。国家药品监督管理局发布的《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则》(试行)指出,弹性体密封件既要满足对包装系统密封性的要求,又要满足密封件与药品具有良好相容性的要求,不可引入具有安全性风险的浸出物,以保证药品在整个生命周期的安全性<sup>[7]</sup>。本文参考相关文献<sup>[8-15]</sup>,建立HPLC法同时考察药用胶塞中多种常用抗氧化剂和可提取硫的提取情况,以及药用胶塞中抗氧化剂和可提取硫向丙泊酚中/长链脂肪乳注射液的迁移情况,为其他注射用制剂及其相应药用胶塞的提取与迁移试验提供参考。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

LC-20A型高效液相色谱仪,岛津公司;XS205DU十万分之一型电子天平,Sartorius公司;AL-204-IC万分之一型电子天平,Sartorius公司;AS5150A型超声仪,天津奥特赛恩斯仪器有限公司;

AS5150A型微波消解仪,CEM公司。

### 1.2 试药

抗氧化剂2,6-二叔丁基-4-羟甲基苯酚(BHT-OH)(批号C0006419,含量97.8%),Beijing Manhage Bio-Tech公司;抗氧化剂3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲酸(BHT-COOH)(批号U11B056,含量98%),Alfa Aesar公司;抗氧化剂3,5-二叔丁基-4-羟基苯基丙酸(1310)(批号C0006441,含量99.4%),BePure公司;抗氧化剂3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛(BHT-CHO)(批号P1193047,含量98%),Adamas Reagent公司;抗氧化剂2,6-二叔丁基苯醌(BHT-Q)(批号P1033037,含量97%),Adamas Reagent公司;抗氧化剂2,4-二叔丁基苯酚(2,4-DBP)(批号HGM01-NESL,含量97%),梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;抗氧化剂2,6-二叔丁基对甲基苯酚(BHT)(批号W2640010,含量98%),Anpel公司;抗氧化剂三(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)异氰脲酸酯(3114)(批号C0006440,含量99.7%),BePure公司;抗氧化剂四(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)苯丙酸季戊四醇酯(1010)(批号11725DE,含量98%),Sigma-Aldrich公司;抗氧化剂1,3,5-三甲基-2,4,6-三(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)苯(330)(批号C0006361,含量99.5%),Be Pure公司;抗氧化剂 $\beta$ -(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸正十八碳醇酯(1076)(批号C0006444,含量98.8%),Be Pure公司;抗氧化剂三(2,4-二叔丁基苯基)亚磷酸酯(168)(批号EW3HC-LC,含量98%),TCI公司;可提取硫(批号P1369618,含量99.9%),Damas-beta公司。

甲醇、乙腈、四氢呋喃均为色谱纯,Fisher公司;乙酸为色谱纯,CNW Technologies公司。1%丙泊酚中/长链脂肪乳注射液(A厂,规格50 mL:0.5 g,批号181128121、181129121、181130121),注射液用卤化丁基橡胶塞(氯化)(B厂,批号S180711201)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 SymmetryShield RP<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相乙腈(A) - 甲醇(B) - 1% 醋酸水溶液(C), 梯度洗脱(0 ~ 6 min, 10% A, 50% B, 40% C; 6 ~ 9 min, 20% A, 50% B, 30% C; 9 ~ 12 min, 25% A, 50% B, 25% C; 12 ~ 21 min, 5% A, 80% B, 15% C; 21 ~ 24 min, 90% A, 5% B, 5% C; 24 ~ 38 min, 0% A, 98% B, 2% C; 38 ~ 50 min, 10% A, 50% B, 40% C), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, 检测波长 277 nm, 进样量 10 μL。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品储备液** 分别取对照品 BHT - OH、BHT - COOH、BHT - CHO、BHT - Q、2, 4 - DBP、BHT、3114、1010、330、1076、1310、168 及可提取硫约 50 mg, 精密称定, 分别置 50 mL 量瓶中, 加二氯甲烷约 5 mL 溶解, 用甲醇定容, 摇匀, 配制成质量浓度约为 1 000 μg · mL<sup>-1</sup> 的单一成分对照品溶液。分别取上述单一成分对照品溶液 10 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 配制成质量浓度约为 100 μg · mL<sup>-1</sup> 的混合对照品储备液 A, 备用; 再分别取 BHT - OH、BHT - COOH、BHT - Q、BHT 及可提取硫的单一成分对照品溶液 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 配制成质量浓度约为 40 μg · mL<sup>-1</sup> 的混合对照品储备液 B, 备用。

**2.2.2 提取试验供试品溶液** 将注射液用卤化丁基橡胶塞(氯化)剪碎成约 5 mm × 5 mm 的小颗粒, 称取约 2.0 g, 装入微波消解罐中, 加入二氯甲烷 10 mL, 40 °C 微波提取 45 min, 冷却至室温。用玻璃漏斗过滤, 除去胶塞, 将滤液旋蒸, 除去二氯甲烷。挥干后的残渣用 5 mL 甲醇超声(频率 40 kHz/功率 70 W)溶解, 转移溶解液至 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 即得。

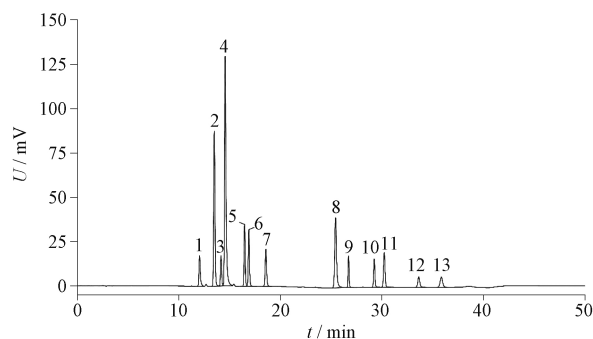
**2.2.3 药品迁移供试品溶液** 分别取 1% 丙泊酚中/长链脂肪乳注射液(批号 181128121、181129121、181130121) 样品各 1 瓶, 分别取药液 2 mL 至 10 mL 量瓶中, 四氢呋喃定容至刻度, 混匀, 即得。

**2.2.4 回收率试验溶液** 取丙泊酚中/长链脂肪乳注射液(批号 181128121) 2 瓶, 混匀, 精密量取混匀后的药液 2 mL 共 9 份, 分为 3 组, 分别置于 10 mL 量瓶中, 每组分别加入混合对照品储备液 B 0.25、0.5、1.25 mL, 四氢呋喃定容至刻度, 制成含对照品质量

浓度约为 1、2、5 μg · mL<sup>-1</sup> 的供试溶液。

### 2.3 系统适应性试验

取“2.2.1”项下混合对照品储备液 A, 用甲醇稀释 5 倍, 在本文色谱条件下进样测定, 各化合物峰之间分离良好, 分离度均 > 1.5, 理论塔板数均 > 5 000。色谱图见图 1。



抗氧剂(antioxidants): 1. BHT - OH 2. BHT - COOH 3. 1 310  
4. BHT - CHO 5. BHT - Q 6. 2, 4 - DBP 7. BHT 8. 可提取硫  
(extractable sulfur) 9. 3 114 10. 1 010 11. 330 12. 1 076 13. 168

图 1 HPLC 混合对照品溶液色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference solution

### 2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品储备液 A 0.05、0.25、0.5、2.5、5、10 mL, 分别置于 50 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 制成 13 种抗氧剂系列浓度对照品溶液。精密量取上述系列浓度溶液各 10 μL, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 记录峰面积。以待测成分质量浓度  $X$  (μg · mL<sup>-1</sup>) 为横坐标, 峰面积  $Y$  为纵坐标, 进行线性回归, 结果见表 1。

### 2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.1”项下混合对照品储备液 A 适量, 用甲醇依次稀释, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 以信噪比( $S/N$ )为 3 时的浓度作为检测限, 以信噪比( $S/N$ )为 10 时的浓度作为定量限。提取试验与迁移试验的检测限和定量限, 需根据胶塞提取与药品迁移制样的稀释倍比进行计算, 具体稀释过程见“2.2.2”“2.2.3”项下, 结果见表 1。

### 2.6 胶塞提取试验

取“2.2.2”项下胶塞提取试验供试溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 检测胶塞中上述抗氧剂及可提取硫的含量, 结果见表 2。该胶塞中检出

表 1 回归方程、线性范围、检测限和定量限

Tab. 1 Regression equation, linear range, limits of detection and limits of quantification

化合物 (compound)	回归方程 (regression equation)	<i>r</i>	线性范围 (linear range)/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	提取试验 (extraction test)		迁移试验 (migration test)	
				LOD/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	LOQ/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	LOD/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	LOQ/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
				BHT-OH	$Y = 3\ 936.5X - 505.94$	0.999 8	0.097 ~ 19.47
BHT-COOH	$Y = 16\ 472X - 1\ 606.6$	0.999 8	0.098 ~ 19.63	0.82	2.73	0.08	0.27
1310	$Y = 3\ 328.5X - 178.25$	0.999 9	0.099 ~ 19.70	1.68	5.58	0.17	0.56
BHT-CHO	$Y = 29\ 407X - 2\ 889.8$	0.999 8	0.098 ~ 19.62	0.49	1.63	0.05	0.16
BHT-Q	$Y = 5\ 080.6X - 572.31$	0.999 8	0.098 ~ 19.52	0.93	3.08	0.09	0.31
2,4-DBP	$Y = 6\ 456.6X - 776.76$	0.999 7	0.098 ~ 19.56	0.77	2.56	0.08	0.26
BHT	$Y = 4\ 764.9X - 479.46$	0.999 8	0.100 ~ 20.02	1.20	4.02	0.12	0.40
3114	$Y = 2\ 853.5X - 307.24$	0.999 8	0.101 ~ 20.22	0.88	2.95	0.09	0.29
1010	$Y = 3\ 248.1X - 443.21$	0.999 8	0.099 ~ 19.77	1.10	3.67	0.11	0.37
1330	$Y = 4\ 471.4X - 604.99$	0.999 7	0.098 ~ 19.60	0.81	2.69	0.08	0.27
1076	$Y = 1\ 736.6X - 298.11$	0.999 6	0.100 ~ 20.00	2.13	7.11	0.21	0.71
168	$Y = 2\ 833.4X - 483.9$	0.999 8	0.099 ~ 19.81	1.67	5.57	0.17	0.56
可提取硫(extractable sulfur)	$Y = 17\ 091 X - 1\ 255.2$	0.999 8	0.099 ~ 19.74	1.30	4.34	0.13	0.43

抗氧化剂 BHT 及可提取硫,其余化合物均未检出。抗氧化剂 BHT 每日最大摄入量计算值高于其相应人每日允许最大暴露量(PDE)值,其余化合物每日最大摄

入量计算值均低于其相应 PDE 值。本文拟在迁移试验中进一步考察抗氧化剂 BHT 及检出量较高的可提取硫,以进一步评估其风险。

表 2 胶塞提取试验结果

Tab. 2 Rubber stopper extraction results

化合物 (compound)	含量 (content)/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	每日最大摄入量 (maximum daily intake)/( $\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ )	PDE/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ )	安全 (safe)
BHT-OH	<0.79	<124.82	21 000	是(yes)
BHT-COOH	<0.82	<129.56	500	是(yes)
1310	<1.68	<265.44	768	是(yes)
BHT-CHO	<0.49	<77.42	500	是(yes)
BHT-Q	<0.93	<146.94	500	是(yes)
2,4-DBP	<0.77	<121.66	240	是(yes)
BHT	122.26	19 317.08	1 800	否(no)
3114	<0.88	<139.04	25 000	是(yes)
1010	<1.10	<173.80	10 000	是(yes)
330	<0.81	<127.98	5 000	是(yes)
1076	<2.13	<336.54	768	是(yes)
168	<1.67	<263.86	9 500	是(yes)
可提取硫(extractable sulfur)	4.4	695.20	2 000	是(yes)

注(note):未检出化合物均以小于检测限表示,每日最大摄入量根据其相应检测限计算(undetected compounds were expressed as less than the limit of detection, and the maximum daily intake was calculated based on their corresponding limit of detection);1%丙泊酚中/长链脂肪乳注射液(规格:50 mL;0.5 g),每人每天最大用量按20瓶计[1% propofol medium/long chain fat emulsion injection (specification: 50 mL;0.5 g), maximum dosage per person per day calculated as 20 bottles]

## 2.7 药品迁移试验

根据“2.5”项下胶塞提取试验结果,本次迁移试验主要针对提取试验中风险较高的抗氧化剂 BHT 及可提取硫。由于抗氧化剂 BHT 在迁移过程中可能降解为 BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q,基于风险考虑,本次迁移试验需对 BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q 做进一步考察。

**2.7.1 精密度试验** 取“2.2.1”项下混合对照品储备液 B 适量,按“2.1”项下色谱条件进样分析,连续进样 6 次,记录峰面积。结果抗氧化剂 BHT、BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q 及可提取硫峰面积的 RSD( $n=6$ )分别为 0.79%、0.39%、0.28%、0.67%、0.36%,表明仪器稳定性良好。

**2.7.2 稳定性试验** 取“2.2.4”项下回收供试品溶液,分别于室温下放置 0、4、9、16、21、28 h,按“2.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果抗氧化剂 BHT、BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q 及可提取硫峰面积的 RSD( $n=6$ )分别为 1.5%、0.93%、3.4%、1.1%、4.8%,表明供试品溶液在室温下放置 28 h 内稳定。

**2.7.3 重复性试验** 药品供试溶液中检出抗氧化剂 BHT,质量浓度约为  $0.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,未检出 BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q 及可提取硫。为了更准确地验证该方法的重复性,需加入混合对照品储备液 B,照“2.2.4”项下方法,同法制备 6 份对照品浓度为  $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的供试溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,结果抗氧化剂 BHT、BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q 及可提取硫的含量均约为  $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,RSD( $n=6$ )分别为 2.7%、2.6%、3.0%、2.3%、2.4%,表明该方法有良好重复性。

**2.7.4 回收率试验** 取“2.2.4”项下回收供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,结果见表 3,回收率为 93.3%~108.7%,RSD 为 1.8%~12.5%,表明该方法测定丙泊酚中/长链脂肪乳注射液供试品中抗氧化剂准确度良好。

**2.7.5 丙泊酚中/长链脂肪乳注射液药品中迁移量测定** 根据提取试验结果,考察在温度  $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 、相对湿度  $75\% \pm 5\%$  的加速条件下放置 0 月(正置)、3 月(正置、倒置)、6 月(正置、倒置)后,药品中上述抗氧化剂及可提取硫的迁移情况。照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,结果见表 4。加速 0、3、6 月的样品中均迁移出抗氧化剂 BHT,迁移量为  $1.79 \sim 3.59 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;BHT 迁

移量随着加速时间的增加而增加,倒置样品迁移量高于正置;均未检出抗氧化剂 BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q 及可提取硫。

## 3 讨论

### 3.1 抗氧化剂及可提取硫的 PDE 值

文献[16]报道抗氧化剂 1010、330、3114 的 PDE 值分别为  $10.5, 25 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ ;文献[17]报道抗氧化剂 BHT-OH、BHT-CHO、BHT、2,4-DBP、1 076、168 的 PDE 值分别为  $21, 0.5, 1.8, 0.24, 0.768, 9.5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

对于未获得毒性数据的化合物,可参考结构类似物推测其 PDE 值<sup>[16]</sup>。抗氧化剂 BHT-COOH、BHT-Q 均参考 BHT-CHO 的 PDE 值  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ ;抗氧化剂 1310 参考 1076 的 PDE 值  $0.768 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

根据欧洲化学物质数据集(IUCLID)的记载,可提取硫的未观察到损害作用剂量(NOEL)为  $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,兔与人的换算系数(F1)取 2.5,不同人体的差异系数(F2)取 10,对啮齿动物家兔 3 个月研究换算系数(F3)取 5,因未发现严重的毒性系数(F4)取 1,因不产生反应的量测得系数(F5)取 1,口服与注射的换算系数取 100,成人体质量以 50 kg 计,可提取硫的 PDE(注射途径) =  $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 50 \text{ kg} \times (2.5 \times 10 \times 5 \times 1 \times 1)^{-1} \times 100^{-1} = 2 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

### 3.2 药品中抗氧化剂及可提取硫的安全性评估

根据生产厂家提供的资料,1% 丙泊酚中/长链脂肪乳注射液(规格 50 mL:0.5 g)每日最大使用量为 20 瓶,以药品检出的最大量计算患者每日最大摄入量,将其与相应抗氧化剂 PDE 值比较,以评估药品迁移的安全性风险。结果(表 5)表明,抗氧化剂 BHT-OH、BHT-COOH、BHT-Q 及可提取硫每日最大摄入量均小于其相应的 PDE 值,由胶塞迁移至药品的风险较低。抗氧化剂 BHT 每日最大摄入量为  $3590 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ ,远高于其 PDE 值( $1800 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ ),由胶塞迁移至药品的风险较高,药液注射入患者体内后可能会带来较大的安全性风险。基于风险考虑,该生产企业已停止使用注射液用卤化丁基橡胶塞(氯化)作为丙泊酚中/长链脂肪乳注射液的密封件,更换为覆膜药用胶塞(注射液用覆聚全氟乙丙烯膜溴化丁基橡胶塞)后再次验证,上述抗氧化剂均未检出。究其原因,是由于覆膜药用胶塞(注射液用覆聚全氟乙丙烯膜溴化丁基橡胶塞)的膜层完全覆盖与药液接触的胶塞部位,药液并未直接接触胶塞,抗氧化剂不易从该种胶塞中迁移至药液。

表3 回收率测定结果

Tab. 3 The results of recovery measurement

化合物 (compound)	样品平均含量 (average content of sample)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	加入量 (added)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	实测量 (measured)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
BHT-OH	0	0.97	1.10	104.8	12.5
		0.97	1.08		
		0.97	0.87		
		1.95	1.90		
		1.95	1.99		
		1.95	1.80		
		4.87	4.88		
		4.87	4.76		
		4.87	5.08		
		4.87	5.08		
BHT-COOH	0	0.98	1.09	103.7	10.8
		0.98	1.07		
		0.98	0.89		
		1.96	2.01		
		1.96	2.13		
		1.96	1.92		
		4.91	5.29		
		4.91	5.18		
		4.91	5.54		
		4.91	5.54		
BHT-Q	0	0.98	0.99	95.2	6.6
		0.98	0.94		
		0.98	0.78		
		1.95	2.06		
		1.95	2.15		
		1.95	2.05		
		4.88	5.09		
		4.88	4.98		
		4.88	5.37		
		4.88	5.37		
BHT	0.26	1.00	1.37	102.3	12.2
		1.00	1.34		
		1.00	1.14		
		2.00	2.20		
		2.00	2.28		
		2.00	2.09		
		5.00	5.13		
		5.00	5.04		
		5.00	5.34		
		5.00	5.34		
可提取硫 (extractable sulfur)	0	1.01	1.01	95.7	4.2
		1.01	0.96		
		1.01	0.93		
		2.02	1.94		
		2.02	2.04		
		2.02	1.84		
		5.05	4.66		
		5.05	4.6		
		5.05	4.87		
		5.05	4.87		

表 4 药品中迁移量的测定  
Tab. 4 Determination of migration in drugs

加速时间 (acceleration time)/ 月(month)	批号 (batch number)	放置方向 (placement direction)	迁移量(migration)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )				
			BHT-OH	BHT-COOH	BHT-Q	BHT	可提取硫(extractable sulfur)
0	181128121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	1.79	<0.13
	181129121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	2.26	<0.13
	181130121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	1.80	<0.13
3	181128121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	2.68	<0.13
		倒置( upend)	<0.08	<0.08	<0.09	3.45	<0.13
	181129121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	2.54	<0.13
		倒置( upend)	<0.08	<0.08	<0.09	3.31	<0.13
	181130121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	2.74	<0.13
		倒置( upend)	<0.08	<0.08	<0.09	2.64	<0.13
6	181128121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	2.86	<0.13
		倒置( upend)	<0.08	<0.08	<0.09	3.36	<0.13
	181129121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	2.47	<0.13
		倒置( upend)	<0.08	<0.08	<0.09	3.35	<0.13
	181130121	正置( upright)	<0.08	<0.08	<0.09	2.92	<0.13
		倒置( upend)	<0.08	<0.08	<0.09	3.59	<0.13

注 (note): 未检出化合物均以小于检测限表示 (undetected compounds are indicated as less than the limit of detection)

表 5 药品迁移安全性评估  
Tab. 5 Safety assessment of drug migration

化合物 (compound)	最大检出量 (maximum amount detected)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	每日最大摄入量 (maximum daily intake)/( $\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ )	PDE/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ )	安全 (safe)
BHT-OH	<0.08	<80	21 000	是 (yes)
BHT-COOH	<0.08	<80	500	是 (yes)
BHT-Q	<0.09	<90	500	是 (yes)
BHT	3.59	3 590	1 800	否 (no)
可提取硫 (extractable sulfur)	<0.13	<130	2 000	是 (yes)

注 (note): 未检出化合物均以小于检测限表示 (undetected compounds are indicated as less than the limit of detection)

### 3.3 提取溶剂的选择

由于丙泊酚中/长链脂肪乳注射液具有较好的脂溶性,为了更好地模拟药液性质,本文选用二氯甲烷作为提取溶剂,采用高效的微波萃取作为胶塞的提取方式。该方法使用较为极端的条件提取胶塞中抗氧化剂及可提取硫,得到的可提取物更多,更有利于抗氧化剂及可提取硫的筛查。

### 3.4 药品迁移方法的选择

由于目标化合物在丙泊酚中/长链脂肪乳注射液中溶解性较好,选用溶剂萃取的方法很难把药液中的抗氧化剂完全提取出来,因此选用溶剂直接溶解稀释的方法。经比较,四氢呋喃在一定比例下能够很好地溶解该药品。四氢呋喃与药液体积比为 1:1、2:1、3:1、4:1 时,四氢呋喃均未能完全溶解药液;调

整体积比为 5:1 时,药液被四氢呋喃完全溶解。因此,选用溶剂四氢呋喃直接溶解稀释药品的方法,稀释体积比为 5:1。

### 3.5 色谱柱的选择

试验采用①Symmetry C<sub>8</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、②ZORABX Eclipse C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)、③Gemini 110 C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、④SymmetryShield RP<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 4 种色谱柱对上述 13 个化合物进行分离。结果发现:采用色谱柱①不能完全分离这 13 个化合物;采用色谱柱②,部分化合物如 BHT - COOH、可提取硫、1330 拖尾现象比较严重且各化合物分离度较差;采用色谱柱④、③,均能使上述 13 个化合物达到基线分离,但前者获得目标化合物色谱峰的峰形明显优于后者,因此,选择色谱柱④进行分析。

### 3.6 检测波长的选择

考察化合物的紫外吸收波长发现,250 ~ 290 nm 范围内各化合物均能找到最大吸收波长,为兼顾各化合物的响应与灵敏度,选择 277 nm 作为检测波长。

### 3.7 流动相的选择

为确保所有化合物均可达到良好分离,本研究选择梯度洗脱。查阅文献发现,多数文章使用的流动相体系为甲醇 - 水,而本次重点研究的抗氧化剂及可提取硫,使用该体系作为流动相时,各组分的分离度较差,拖尾峰较多,而且基线不平稳。经过多次筛选与比较,发现甲醇 - 乙腈 - 1% 醋酸水溶液作为流动相体系时,各组分的保留时间适中,分离度良好,基线更平稳,满足系统适用性试验要求。

## 4 结论

本文开发了 1 种监测常用抗氧化剂及可提取硫的 HPLC 方法,灵敏度高,操作简单,可同时用于丙泊酚中/长链脂肪乳注射液所用胶塞的提取试验与药品迁移试验。

### 参考文献

- [1] 彭创业,曾少群,陈少明,等. HPLC 法测定丙泊酚中/长链脂肪乳注射液有关物质[J]. 今日药学,2016,26(11): 799  
PENG CY, ZENG SQ, CHEN SM, *et al.* Determination of related substances in propofol medium and long chain fat emulsion injection by HPLC[J]. *Pharm Today*, 2016, 26 (11): 799
- [2] 鲁丹,谢春燕,余浩权,等. HPLC 法测定丙泊酚中/长链脂肪乳注射液与含葡萄糖的注射液配伍的 5 - 羟甲基糠醛的含量[J]. 今日药学,2018,28(11): 736

- LU D, XIE CY, YU HQ, *et al.* Determination of 5 - hydroxymethylfurfural in compatibility of propofol medium/long - chain fat emulsion with Injection containing glucose by HPLC[J]. *Pharm Today*, 2018, 28 (11): 736
- [3] 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 种抗氧化剂和可提取硫的含量[J]. 中国药房,2018,29(18): 2475  
ZHU BJ, LI TT, SUN HM, *et al.* Simultaneous determination of 5 antioxidants and free sulfur in pharmaceutical halogenated butyl rubber stopper by HPLC[J]. *China Pharm*, 2018, 29(18):2475
- [4] 张艳惠,李海燕,岳洪水,等. 注射用益气复脉(冻干)与氯化丁基胶塞相容性研究中抗氧化剂和硫化剂的含量测定[J]. 药物评价研究,2018,41(3):496  
ZHANG YH, LI HY, YUE HS, *et al.* Determination of antioxidant and vulcanizing agent on study compatibility of chlorinated butyl rubber plug and Yiqi Fumai lyophilized injection[J]. *Drug Eval Res*,2018,41(3):496
- [5] 李春焕,薛维丽,邢晟,等. 高效液相色谱法检测溴化丁基胶塞中 11 种抗氧化剂及可提取硫的浸出量及迁移量[J]. 分析试验室,2020,39(1): 91  
LI CH, XUE WL, XING S, *et al.* Leaching and migration studies on 11 antioxidants and free sulfur in brominated butyl rubber plugs [J]. *Chin J Anal Lab*, 2020, 39(1): 91
- [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(3): 80  
CHENG J, ZHANG LH, JIANG Y, *et al.* Determination of antioxidants and extractable sulfur in medicinal rubber stopper [J]. *Pack Eng*, 2023, 44(3): 80
- [7] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2018 - 04 - 26) [2019 - 03 - 05]. <http://www.cde.org.cn/zdzy.do?method=largePage&id=304>  
Center For Drug Evaluation, NMPA. Technical Guiding Principles of Research on Compatibility of Chemicals and Elastomer Seals (Trial)[EB/OL]. (2018 - 04 - 26) [2019 - 03 - 05]. <http://www.cde.org.cn/zdzy.do?method=largePage&id=304>
- [8] 陈蓉,晏菊姣. 药用丁基胶塞中抗氧化剂 BHT 的 UPLC 法测定[J]. 中国药师,2018,21(8):1494  
CHEN R, YAN JJ. Determination of antioxidant BHT in medicinal butyl rubber plug by UPLC[J]. *China Pharm*, 2018, 21(8):1494
- [9] 曲亚南,徐苏华,陈浩瀚,等. 固相萃取 - 高效液相色谱法测定极性注射液中抗氧化剂 BHT 含量[J]. 中国医疗器械信息,2015,21(12):52  
QU YN, XU SH, CHEN HH, *et al.* Determination of antioxidant BHT in polar injection by SPE - HPLC[J]. *China Med Dev Inf*, 2015, 21(12):52
- [10] 余秋玲,李根容,龙梅,等. 高效液相色谱法测定输液袋中 12 种抗氧化剂的迁移量[J]. 分析试验室,2021,40(9):1075  
YU QL, LI GR, LONG M, *et al.* Determination of migration of 12 antioxidants in the infusion bag by HPLC[J]. *Chin J Anal Lab*,

- 2021, 40(9): 1075
- [11] 蔡心怡,王悦雯,冯靖. 药品包装材料用塑料粒料中8个常用抗氧化剂的含量测定[J]. 药物分析杂志,2020,40(3):523  
CAI XY, WANG YW, FENG J. Determination of 8 kinds of commonly used antioxidants in pharmaceutical packaging plastic pellets [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(3): 523
- [12] 饶艳春,左军凤,熊马建,等. 胶塞中抗氧化剂测定及其在药品中的迁移研究[J]. 中国药物评价,2020,37(5):380  
RAO YC, ZUO JF, XIONG MJ, *et al.* Determination of antioxidants in rubber plugs and study on the migration in drug[J]. *Chin J Drug Eval*, 2020, 37(5): 380
- [13] 张罗红,黄婉莎,张欣,等. 药用橡胶塞中17种多环芳烃测定方法[J]. 包装工程,2021,42(17):10  
ZHANG LH, HUANG WS, ZHANG X, *et al.* Determination methodology of 17 polycyclic aromatic hydrocarbons in pharmaceutical rubber stoppers[J]. *Pack Eng*, 2021, 42(17): 10
- [14] 蒲小聪,陈蕊,游延军,等. 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  
PU XC, CHEN R, YOU YJ, *et al.* HPLC determination for migration of antioxidant 1076 from rubber stopper to micafungin sodium injection [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2017, 37(7): 1298
- [15] 张旭,傅萍,谢华,等. HPLC法同时测定药用卤化丁基胶塞中17种抗氧化剂向注射用伏立康唑中的迁移[J]. 药物分析杂志,2020,40(8):1481  
ZHANG X, FU P, XIE H, *et al.* Determination of migration of 17 antioxidants from pharmaceutical halogenated butyl rubber stopper to voriconazole for injection by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(8): 1481
- [16] 蒋煜,马玉楠,霍秀敏. 《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》解读-提取迁移试验方法设计[J]. 中国新药杂志,2014,23(15):1738  
JIANG Y, MA YN, HUO XM. Interpretation of the guideline of compatibility study of pharmaceutical products and packaging materials - extract and migration study design [J]. *Chin J New Drugs*, 2014, 23(15): 1738
- [17] 马玉楠,蔡弘,骆红宇. 药品与包装相容性理论与实践[M]. 北京:化学工业出版社,2019:430  
MA YN, CAI H, LUO HY. *Theory and Practice Compatibility of Pharmaceutical Products Packaging* [M]. Beijing: Chemistry Industry Press, 2019:430

(本文于2023年9月20日修改回)